

CINÉTICA QUÍMICA DE LA FERMENTACIÓN DEL MUCÍLAGO DE CAFÉ A TEMPERATURA AMBIENTE

Gloria Inés Puerta Quintero*

PUERTA Q., G. I. Cinética química de la fermentación del mucílago de café a temperatura ambiente. Revista Cenicafé 64(1): 42-59 2013

En esta investigación se cuantificaron concentraciones de azúcares totales, azúcares reductores, acidez y etanol del mucílago de café durante 74 h de fermentación a temperatura ambiente. Se hallaron ecuaciones, coeficientes cinéticos y las tasas de degradación y de producción en la fermentación del mucílago del café. Los cambios en las concentraciones de azúcares, ácidos y etanol en la fermentación del mucílago variaron con el tiempo; inicialmente la velocidad fue lenta, luego más rápida hasta que alcanzó un valor máximo, después la tasa disminuyó hasta que las concentraciones del sustrato y de los productos permanecieron casi constantes. Los siguientes coeficientes cinéticos fueron: 0,055 h⁻¹ para azúcares reductores, 0,048 h⁻¹ para azúcares totales, 0,076 h⁻¹ para acidificación y 0,064 h⁻¹ para producción de etanol. Después de 20 h, 15,9% de los azúcares reductores iniciales se fermentaron y 20% de los totales se degradaron; entre 45 y 47 h se alcanzó la máxima velocidad de fermentación y la concentración de los azúcares en el sustrato disminuyó casi a la mitad del valor inicial. Las velocidades máximas de acidificación y de producción de alcohol se alcanzaron a las 22 h de fermentación. Con estos datos cinéticos puede controlarse el proceso de fermentación del café para evitar la formación de defectos como el vinagre y mejorar la calidad del café. También pueden optimizarse los tiempos de proceso y el diseño del fermentador en la industrialización de mucílago. Se recomienda la titulación química de la acidez del mucílago de café como una medida de control en la fermentación.

Palabras clave: Azúcares totales, azúcares reductores, etanol, acidez, ácido acético, coeficiente cinético, modelación matemática.

CHEMICAL KINETICS DURING THE MUCILAGE COFFEE FERMENTATION AT AMBIENT TEMPERATURE

In this research concentrations of total sugars, reducing sugars, acidity and alcohol of coffee mucilage during 74 hours fermentation at ambient temperature were quantified. With these experimental data, equations, kinetic coefficients and the rates of degradation and production in fermentation of coffee mucilage were found. The changes in the concentrations of sugars, acids and ethanol in the fermentation of coffee mucilage varied through time, thus, initially the speed was slow, then faster until it reached a maximum value, then this rate decreased until the concentrations of substrate and products remained almost constant. The following kinetic coefficients were found, 0.055 h⁻¹ for reducing sugars, 0.048 h⁻¹ for total sugars, 0.076 h⁻¹ for acidification and 0.064 h⁻¹ for the production of ethanol. After 20 hours, 15.9% of initial reducing sugars were fermented and 20% of total sugars were degraded; between 45 and 47 h the maximum speed of fermentation was reached and the concentration of sugars in the substrate decreased nearly to half its initial value. After 22 h of fermentation, the maximum speeds of acidification and of the alcohol production were reached. With the knowledge of these kinetic data the process of coffee fermentation could be controlled to avoid the formation of defects like the vinegar and thus to improve coffee quality. Also the times of process and the design of the fermenter in the industrialization of coffee mucilage could be optimized. It is recommended, the chemical titration of acidity of the coffee mucilage as a control measure in the fermentation of coffee

Keywords: Total sugars, reducing sugars, ethanol, acidity, acetic acid, kinetic coefficient, mathematical modelling.

* Investigador Científico III. Disciplina Calidad, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia.

En el beneficio del café por la vía húmeda se generan varios residuos: la pulpa en el despulpado, el mucílago fresco cuando se utilizan desmucilagadores mecánicos, las mieles fermentadas cuando el grano se procesa por la fermentación natural, y las aguas residuales en el lavado.

El mucílago de café es un sustrato que se fermenta en forma natural a temperatura ambiente, debido a su composición química y microbiológica, esencialmente conformada por agua, azúcares, levaduras y bacterias lácticas. En la fermentación del mucílago de café se degradan los azúcares y se forman diversos productos como etanol, ácido láctico, ácido acético, pero también otros alcoholes y ácidos, CO₂, agua, aldehídos, cetonas y energía (ATP). Además, en este proceso ocurren cambios del pH, grados Brix, demanda química de oxígeno (DQO), color y olor del mucílago, también se degradan casi por completo los lípidos y parcialmente las sustancias pécticas (27, 31).

La cinética es el estudio de las velocidades y mecanismos de una reacción. Las velocidades de las fermentaciones se definen como los cambios a través del tiempo, de las concentraciones de la biomasa de microorganismos, del sustrato y de los productos formados. Las velocidades de las fermentaciones dependen de la temperatura externa, ya que ésta influye en el desarrollo y metabolismo de los microorganismos.

En los estudios cinéticos, mediante modelación matemática se determinan ecuaciones que relacionan las concentraciones con el tiempo o con otros factores o variables. En la literatura se reportan curvas y datos cinéticos de algunos productos, microorganismos y sustratos fermentados en diferentes sistemas como mezcal (14), yogurt (24), ácido láctico a

partir de suero de leche (17, 21, 23), lactosa (7) y hongos (36), entre otros.

Así mismo, algunos autores han cuantificado las concentraciones de los azúcares, etanol y ácidos del mucílago de café en determinados tiempos de fermentación (5, 16, 20, 22, 35). Sin embargo, en la actualidad no se han encontrado referencias en la literatura sobre los parámetros cinéticos o las ecuaciones matemáticas, que describan los procesos que ocurren en la fermentación del mucílago de café.

Usualmente, en los estudios sobre procesos de fermentación se determinan solamente los rendimientos, productividades o conversiones del sustrato (13). En el caso del mucílago de café, Calle (11) reportó un rendimiento de 1,2 L de alcohol de 85° por 100 kg de café cereza maduro; Arias y Ruiz (2) presentaron gráficas de las concentraciones del sustrato, etanol y biomasa vs el tiempo de fermentación de mucílago de café con *Saccharomyces cerevisiae* e hidrólisis enzimática en sistemas agitados y pH controlado, a temperaturas entre 32 y 38°C.

Henao *et al.* (15) presentaron rendimientos y productividades de ácido láctico obtenido del mucílago de café en procesos de hidrólisis enzimática y fermentaciones discontinuas con *Lactobacillus bulgaricus*, a temperaturas entre 40 y 50°C. Por su parte, Rodríguez y Zambrano (33) reportaron un rendimiento de 58,4 mL de etanol por cada kilogramo de mucílago fresco.

El conocimiento sobre la cinética de la fermentación del mucílago de café, las ecuaciones de ajuste de los datos experimentales, las velocidades de degradación, los tiempos de formación de los productos y las producciones máximas son datos necesarios para optimizar el diseño de los fermentadores del café en

los beneficiaderos, así como en las plantas industriales de fermentación y aprovechamiento del mucílago de café. Además, esta información contribuiría a la selección de los controles, mediciones, límites críticos, mejoras en el proceso del beneficio del café y al aseguramiento de la calidad de la bebida (28, 29, 30).

En esta investigación se cuantificaron las concentraciones de los azúcares totales, azúcares reductores, acidez y etanol del mucílago de café durante la fermentación hasta por 74 h, a temperatura ambiente. Con estos datos experimentales se analizaron modelos matemáticos mediante regresiones y se hallaron ecuaciones, coeficientes cinéticos y valores de las velocidades máximas de degradación de los azúcares y de la producción de etanol y de acidificación del mucílago de café, con el tiempo de fermentación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización. El experimento se realizó en los laboratorios de Cenicafé (Manizales, Caldas), localizados a 05° 00' latitud Norte, 75° 36' longitud Oeste y 1.310 m de altitud, con temperatura media de 21,0°C, temperatura máxima de 27,6°C, temperatura mínima de 16,8°C y humedad relativa del 77%, según datos climáticos de la estación meteorológica de Cenicafé.

Origen del café. Se procesaron muestras de *Coffea arabica* L. de la variedad Colombia fruto rojo. El café fue cultivado en fincas ubicadas en Chinchiná y en lotes experimentales de la Estación Central Naranjal en Chinchiná, localizada a 04° 58' latitud Norte, 75° 39' longitud Oeste, 1.381 m de altitud, con temperatura media de 20,9°C, humedad relativa del 78%, precipitación total anual de 2.782 mm, con 229 días de lluvia y 1.763 horas de brillo solar.

Beneficio del café. Para obtener la mayor cantidad de frutos de café maduros, las cerezas se recolectaron de forma selectiva y en fechas óptimas, de acuerdo a las épocas de las floraciones de los cafetales. Luego, en el beneficiadero cada lote de café recibido, se pasó por una zaranda de motor y por selección manual para retirar frutos verdes, secos y pintones, después el café seleccionado se despulpó sin agua y se pasó por una zaranda para descartar pulpas y granos no despulados, posteriormente se desmucilagino mecánicamente en un equipo 600 kg cereza por hora, con un flujo de agua de 1,6 L.min⁻¹.

El mucílago obtenido se fermentó en canecas plásticas de 80 L, en sistemas discontinuos (*batch*), estáticos y abiertos. Durante los días de ejecución de la investigación, la temperatura del aire varió entre el día y la noche de 15,4 a 30,5°C (promedio 20,5°C), humedad relativa de 81,7% (37,0% a 98,0%), según datos climáticos de la estación meteorológica de Cenicafé.

Diseño experimental. Se evaluaron por duplicado, diez tratamientos de procesos de fermentación, correspondientes a diez tiempos sucesivos de fermentación 0, 4, 8, 20, 26, 31, 44, 52, 68 y 74 h. La unidad de trabajo fue de 50 kg de mucílago de café obtenido de café maduro y seleccionado, de cada unidad de trabajo se determinaron por duplicado las concentraciones de azúcares, acidez y etanol del sustrato. Los tiempos de los tratamientos se fijaron con base en la disponibilidad del mucílago, de acuerdo a los horarios de recolección y de beneficio, en una finca cafetera de Colombia. Además, se consideraron las prácticas generales de fermentación del café en las fincas, donde usualmente este proceso se desarrolla dejando el grano por diferentes tiempos, una, dos o tres noches.

Variables medidas. Se cuantificaron las siguientes variables: Porcentaje de azúcares totales, porcentaje de azúcares reductores, porcentaje de alcohol y porcentaje de acidez total expresada como ácido acético, en el mucílago de café fresco y fermentado.

Análisis químicos de mucílago. De cada fermentador y hora de tratamiento, sin perturbar el sistema, se sacaron en frascos, en forma compuesta 2 kg de mucílago, en diferentes puntos. Las muestras se mantuvieron congeladas, luego se batieron por porciones en una licuadora doméstica durante 2 min, la mezcla se pasó por un cedazo para retirar las impurezas gruesas y luego se tomaron muestras en las cantidades requeridas para cada análisis.

Se siguieron los métodos de análisis de la AOAC (3), así: Lane Eynon para los azúcares reductores, Lane Eynon con hidrólisis ácida para los azúcares totales, oxidación con dicromato de potasio y titulación con sulfato ferroso de amonio para el alcohol, valoración con NaOH 0,1N hasta pH 8,3 para la acidez total. Los resultados para cada variable se expresaron en porcentaje, en base húmeda. La acidez total se expresó como porcentaje de ácido acético.

Análisis de resultados. Se plantearon ecuaciones para la degradación del sustrato y la producción de alcohol y acidez en el tiempo, teniendo en cuenta los procesos bioquímicos que ocurren en la fermentación. Con los datos experimentales se realizaron regresiones y se estimaron los parámetros, con el fin de ajustar curvas que relacionaran las concentraciones de los azúcares totales, azúcares reductores, alcohol y acidez con el tiempo de fermentación del café, a temperatura ambiente.

Se utilizó el programa Matlab para la obtención de las derivadas parciales con

respecto a cada parámetro de las ecuaciones y al tiempo, el programa XLSTAT para las regresiones y el Excel para graficar. Los parámetros de las ecuaciones se determinaron mediante el método iterativo con las siguientes condiciones: iteraciones 200 y convergencia 0,00001, para lo cual se partió de valores iniciales que se establecieron con base en los datos medidos de las concentraciones en el tiempo cero y las concentraciones mínimas o máximas, según la tendencia de los datos de los azúcares y de los productos con el tiempo de fermentación.

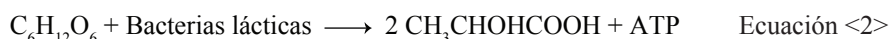
Así mismo, para estimar los valores de los coeficientes cinéticos de degradación y de producción, se efectuaron previamente regresiones exponenciales de base $e = 2,71828$, entre la concentración de los azúcares y productos y el tiempo, con el fin de tener una idea de la magnitud de estos coeficientes. Igualmente, los valores de los parámetros de las funciones del sustrato y del producto se estimaron mediante el método de la linealización de las funciones y los gráficos para encontrar las pendientes e interceptos.

De los resultados de las regresiones de ajustes de las ecuaciones a los datos se obtuvieron el coeficiente de determinación R^2 , la suma de los cuadrados de los errores (residuales), la media de los cuadrados de los errores y la raíz cuadrada de la media de los cuadrados de los errores del modelo y también el número de iteraciones efectuadas. Así mismo, se determinaron los valores de cada parámetro después del ajuste al modelo y su desviación típica, además, las predicciones y residuales para cada dato observado y para los promedios en cada tiempo.

Datos cinéticos estimados. Con base en los parámetros hallados y en la expresión diferencial, se estimaron las velocidades

de degradación y formación en función del tiempo y de la concentración del sustrato o producto. También se calcularon las velocidades máximas de producción y de degradación (%/h), los tiempos y las concentraciones en que se alcanzaron las máximas velocidades de degradación y de producción. Además, se estimó el tiempo en que se consumió la mitad de la concentración del sustrato en la fermentación del mucílago de café.

A continuación se presenta el planteamiento de los balances y ecuaciones de degradación de sustrato y formación de productos en el sistema de fermentación del mucílago de café usado en este estudio, donde se utilizó el mucílago natural obtenido del desmucilaginado, sin adiciones al sustrato,



Dependiendo del sistema y de las condiciones de fermentación pueden presentarse otras fermentaciones como la propiónica y la butírica, a partir del ácido láctico producido en las fermentaciones lácticas.

Debido a que en un sistema discontinuo de fermentación del mucílago de café los productos se forman a partir de los sustratos presentes y se acumulan a través del tiempo, la velocidad de degradación del sustrato ($-dS/dt$) y la velocidad de formación de los productos (dP/dt), pueden expresarse con las derivadas, según Baeza (6) y Levenspiel (19), como se muestra en las Ecuaciones <4> y <5>.

$$\frac{-ds}{dt} = ks*(funciónS(t)) \quad \text{Ecuación <4>}$$

$$\frac{dP}{dt} = kp*(funciónP(t)) \quad \text{Ecuación <5>}$$

ni alimentación posterior al sistema, tampoco se retiraron los productos, a excepción del CO_2 que salió naturalmente del sistema, pero que no se midió en este experimento.

Las principales fermentaciones del mucílago de café son: la alcohólica que se representa en la Ecuación estequiométrica teórica (Ecuación <1>) donde el sustrato conformado por los azúcares reductores y totales es transformado en etanol, CO_2 y energía por las levaduras. Así mismo, las fermentaciones lácticas homofermentativas y heterofermentativas, ecuaciones estequiométricas teóricas Ecuaciones <2> y <3>, en las cuales diferentes bacterias lácticas transforman los azúcares en ácido láctico, CO_2 , etanol o ácido acético y energía.

Donde:

Función $S(t)$: Función que relaciona la concentración del sustrato

S : Azúcares totales o azúcares reductores con el tiempo de fermentación

ks : Coeficiente de velocidad de degradación del sustrato, h^{-1}

Función $P(t)$: función que relaciona la concentración del producto

P : Alcohol o acidez con el tiempo de fermentación

kp : Constante de velocidad de formación de producto, h^{-1}

t : Tiempo de fermentación, h

Con el fin de comprobar que las curvas de las ecuaciones propuestas concordaban con el comportamiento de los datos experimentales se elaboraron gráficas de los datos; así, se observó un decrecimiento en el caso de los azúcares y un crecimiento en el caso

de los productos con tendencia asintótica. Igualmente, se revisó la distribución de los puntos experimentales respecto a las curvas ajustadas, como lo recomienda Burguillo (9).

Cabe destacar que se obtuvieron coeficientes de determinación de 0,91 y de 0,95 cuando las concentraciones de los azúcares reductores y totales del sustrato se relacionaron con los tiempos de fermentación mediante ajustes con ecuaciones de líneas rectas. Sin embargo, este ajuste lineal se descartó debido a que no tiene significado en sistemas de fermentación, donde suceden procesos bioquímicos, en los cuales los microorganismos consumen el sustrato a través del tiempo, a unas tasas que no son constantes y que dependen de diferentes factores.

A su vez, una Ecuación con función exponencial de base $e = 2,71828$, resultó en un mejor ajuste para la degradación en la variable azúcares totales que para los reductores, y además, expresó la degradación a velocidades no constantes; sin embargo, también se descartó porque presentó mayores desviaciones que el modelo ajustado en esta investigación.

Igualmente, en el caso de los productos, con una ecuación cuadrática se ajustaron muy bien los datos de las concentraciones de acidez con el tiempo, incluso hasta las 74 h de fermentación, pero este tipo de ecuación (parábola) también se descartó para la cinética de la fermentación del mucílago de café, dado que las concentraciones de los productos no decrecieron después de alcanzarse la concentración máxima, sino que se mantuvieron en un valor que no varió significativamente después de un tiempo. Peñuela (26) propuso un modelo cuadrático para relacionar el porcentaje de mucílago removido en el tiempo de fermentación que

presentó coeficientes de determinación R^2 de 86,18% y 86,35% para café clasificado y sin clasificar, respectivamente.

Por consiguiente, teniendo en cuenta que las degradaciones y las formaciones de productos en la fermentación están asociadas al crecimiento y metabolismo de las levaduras y bacterias del mucílago (8, 37), se planteó una función de decrecimiento (Ecuación <6>), para la degradación de los azúcares totales y reductores en función del tiempo, tomando como referencia la función de crecimiento logístico simétrica descrita por Landsberg (18).

$$S(t) = \frac{S_{max}}{1 + b * e^{k_s * t}} \quad \text{Ecuación <6>}$$

Así mismo, la producción de etanol y la acidificación del mucílago de café con el tiempo de fermentación se expresaron con la Ecuación <7> de crecimiento poblacional de Verhulst (39), citada por Ulloa (38). De esta forma, se consideró que la formación de productos se asimila al crecimiento de los microorganismos, que es exponencial en las primeras horas, pero que no continúa así indefinidamente, sino que alcanza un valor máximo o punto de saturación, en el cual la concentración se mantiene más o menos constante.

$$P(t) = \frac{P_{max} * P_0 * e^{k_s * t}}{P_0 * (e^{k_s * t} - 1) + P_{max}} \quad \text{Ecuación <7>}$$

De las derivadas respecto al tiempo de las Ecuaciones <6> y <7> se obtuvieron las expresiones para la cinética de fermentación del mucílago del café, velocidades de consumo del sustrato y de formación de los productos, que se muestran en las Ecuaciones <8> y <9>.

$$-\frac{ds}{dt} = \frac{ks * Smax * b * exp^{ks*t}}{1 + (b * exp^{ks*t})^2} \quad \text{Ecuación <8>}$$

$$\frac{dp}{dt} = \frac{kp * exp^{kp*t} * Pmax * (Pmax - Po) * Po}{(exp^{kp*t} * Po + Pmax - Po)^2} \quad \text{Ecuación <9>}$$

Donde el significado y unidades de los parámetros son los siguientes:

$S(t)$: Concentración del sustrato, azúcares totales o azúcares reductores, en un tiempo determinado, %

$Smax$: Concentración máxima de sustrato, %

b : Coeficiente adimensional, representa la relación entre la diferencia de la concentración $Smax$ estimada y la concentración real disponible en el tiempo cero, dividido entre la concentración real disponible en el tiempo cero

ks : Coeficiente o constante de velocidad de degradación del sustrato, h^{-1}

$P(t)$: Concentración del producto, alcohol o acidez, en un tiempo determinado, %

Po : Concentración inicial del producto, %

$Pmax$: Concentración máxima de producto, %

kp : Constante de velocidad de formación de producto, h^{-1}

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cinética de los azúcares totales y reductores.

En las Tablas 1 y 2 se presentan los valores de los parámetros y coeficientes de ajuste de la Ecuación <6> para las variables porcentaje de azúcares totales y porcentaje de azúcares reductores del mucílago de café con el tiempo de fermentación, a temperatura ambiente.

El mucílago presentó una concentración de azúcares totales iniciales entre 6,15% y 7,40% en base húmeda, que concuerdan con los datos reportados por Menchú y Rolz (22) y Rodríguez y Ríos (32), pero superiores a los valores reportados por Aguirre (1), Pee y Castelein (25), Elías (12) y Cabrera *et al.* (10). Por otra parte, los azúcares reductores

Tabla 1. Parámetros de la Función de decrecimiento de la degradación de los azúcares totales y reductores del mucílago de café durante la fermentación, a temperatura ambiente.

Parámetro	Azúcares totales		Azúcares reductores	
	Valor	Desviación típica	Valor	Desviación típica
b	0,129	0,036	0,086	0,031
ks	0,048	0,003	0,055	0,005
$Smax$	7,260	0,304	4,411	0,189

conformaron del 4,00% a 4,61% del peso del mucílago fresco, valores similares a los reportados por Elías (12), Cabrera *et al.* (10) y Rodríguez y Ríos (32).

Las curvas que representan la degradación de los azúcares totales y reductores durante la fermentación del mucílago de café se observan en las Figuras 1a y 2a, las velocidades a través del tiempo en las Figuras 1b y 2b y las tasas de degradación correspondientes a cada concentración se presentan en las Figuras 1c y 2c.

En la fermentación del mucílago de café la concentración de los azúcares totales disminuyó a velocidades variables (Figura 1b). Esta degradación inició a una velocidad de 0,0353%/h y alcanzó la máxima velocidad de 0,0871%/h a las 44 h; luego, hubo una desaceleración de la fermentación debido al consumo del sustrato y al metabolismo de los microorganismos. A las 74 h de fermentación, la velocidad de degradación de los azúcares totales se estimó en 0,0534%/h y la concentración en 1,312%. La mitad de los azúcares totales del sustrato se degradó entre las 45 y 46 h.

Tabla 2. Coeficientes de ajuste de los parámetros de la Función de decrecimiento de la degradación de los azúcares totales y reductores del mucílago de café durante la fermentación, a temperatura ambiente.

Coeficiente	Azúcares totales	Azúcares reductores
Observaciones	43	44
Grados de libertad	40	41
Coefficiente de determinación R ²	0,945	0,911
Suma de los cuadrados de los errores (residuales)	8,796	6,242
Media de los cuadrados de los errores	0,220	0,152
Raíz cuadrada de la media de los cuadrados de los errores	0,469	0,390
Iteraciones efectuadas	18	15

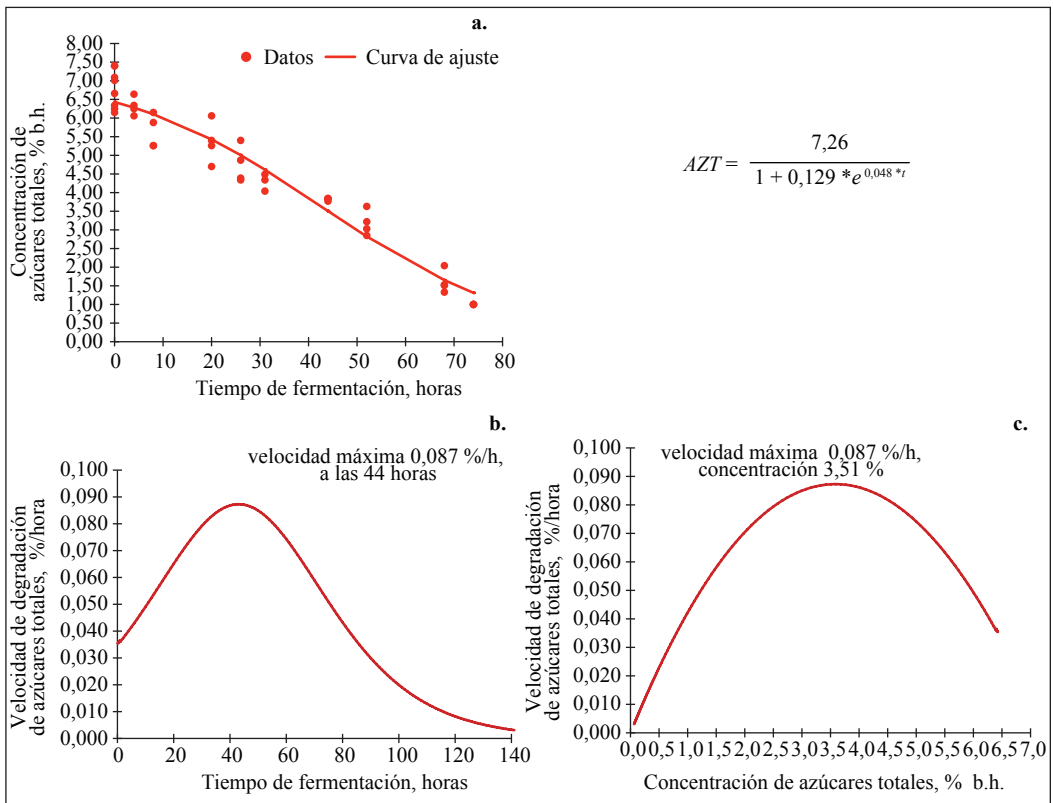


Figura 1. Cinética de la degradación de azúcares totales (AZT) del mucílago de café en la fermentación a temperatura ambiente promedio 20,5°C. **a.** Concentración vs tiempo; **b.** Velocidad vs tiempo; **c.** Velocidad vs concentración.

Así mismo, la concentración de los azúcares reductores del mucílago de café disminuyó a diferentes velocidades, según el tiempo Figura 2b. Así, de una velocidad inicial de 0,0177%/h aumentó hasta la máxima velocidad de 0,0606%/h

a las 46 h, posteriormente la velocidad de la fermentación disminuyó; a las 74 h, la velocidad se estimó en 0,0348%/h y la concentración en 0,709%. La mitad de los azúcares reductores del sustrato se fermentaron entre las 46 y 47 h.

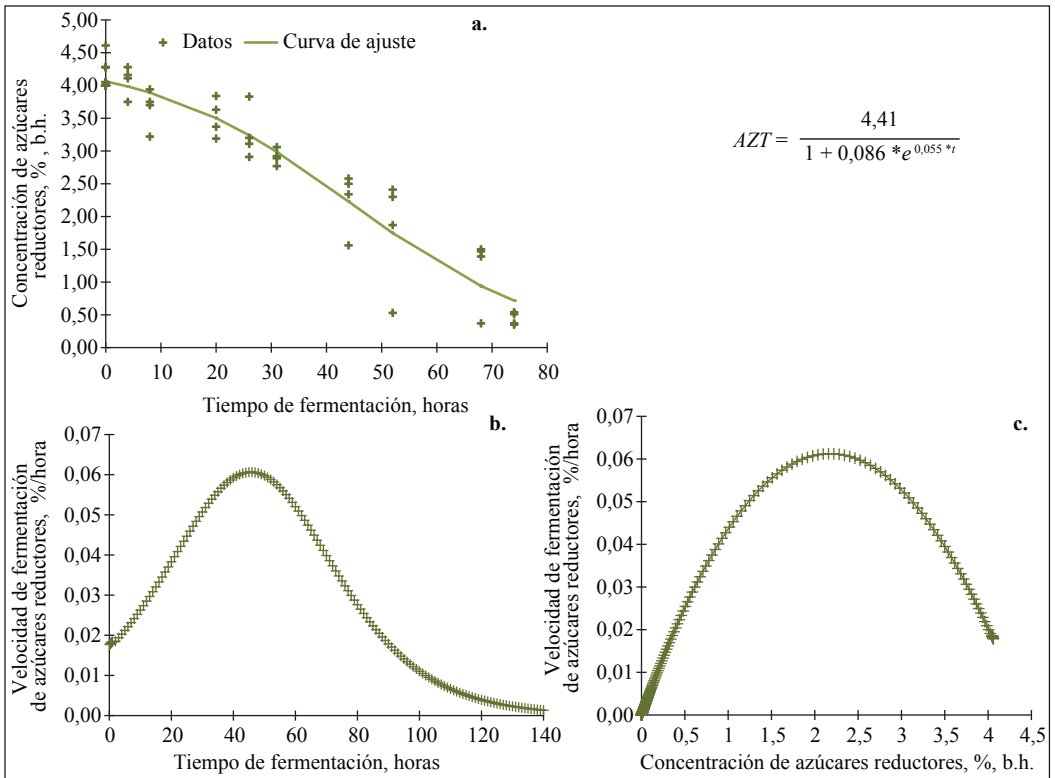


Figura 2. Cinética de la fermentación de azúcares reductores (AZR) del mucílago de café a temperatura ambiente promedio 20,5° C. **a.** Concentración vs tiempo; **b.** Velocidad vs tiempo; **c.** Velocidad vs concentración.

De la cinética de degradación del mucílago de café en la fermentación, se observó que los cambios en las concentraciones de los azúcares del mucílago aumentan con el tiempo de proceso hasta alcanzar un valor máximo de velocidad y a medida que el sustrato se va agotando la velocidad disminuye.

El valor del coeficiente cinético ks resultó mayor para los azúcares reductores $0,055 \text{ h}^{-1}$ que para los totales, $0,048 \text{ h}^{-1}$. En cambio, se encontró un mayor porcentaje de degradación de los azúcares totales que de fermentación de los reductores respecto a cada contenido inicial, durante las primeras 53 h de proceso; sin embargo, después de este tiempo el porcentaje de

azúcares fermentados fue mayor a través del tiempo.

Así, a las 20 h se fermentó el 15,9% de los azúcares reductores iniciales y se degradó el 20% de los totales. Estos valores difieren del 60% de reducción de azúcares totales reportados por Avallone *et al.* (5), después de 20 h de fermentación del mucílago de café.

A las 74 h el mucílago presentó un 17,1% de los azúcares reductores y un 19,3% de los azúcares totales iniciales en el mucílago fresco. Por consiguiente, durante la fermentación incluso después de 74 h no se degrada toda la cantidad de azúcares

presentes en el mucílago de café. Jackels y Jackels (16) también concluyeron que después de 20 h de fermentación no se agotaba toda la glucosa del mucílago.

Por otro lado, en las Figuras 3a y 3b se compararon los porcentajes de degradación de los azúcares totales y reductores estimados con los datos experimentales, según las curvas de ajuste. Entre las 0 y 74 h de fermentación se registró un porcentaje de error medio entre el ajuste y los datos experimentales de +5,3% para los azúcares totales y de -7,1% para los azúcares reductores.

De igual manera, en las Tablas 3 y 4 se comparan los promedios de la concentración de los azúcares totales y reductores de los datos experimentales, con los valores obtenidos de la curva de ajuste en cada tiempo de fermentación. Con los contenidos promedios, los valores medios del cuadrado de los errores fueron de 0,085 para los azúcares totales y de 0,022 para los azúcares reductores.

Cinética de la formación de etanol.

El mucílago de café fresco presentó un contenido de 0,080% a 0,146% de etanol con un promedio de 0,12%. La variación

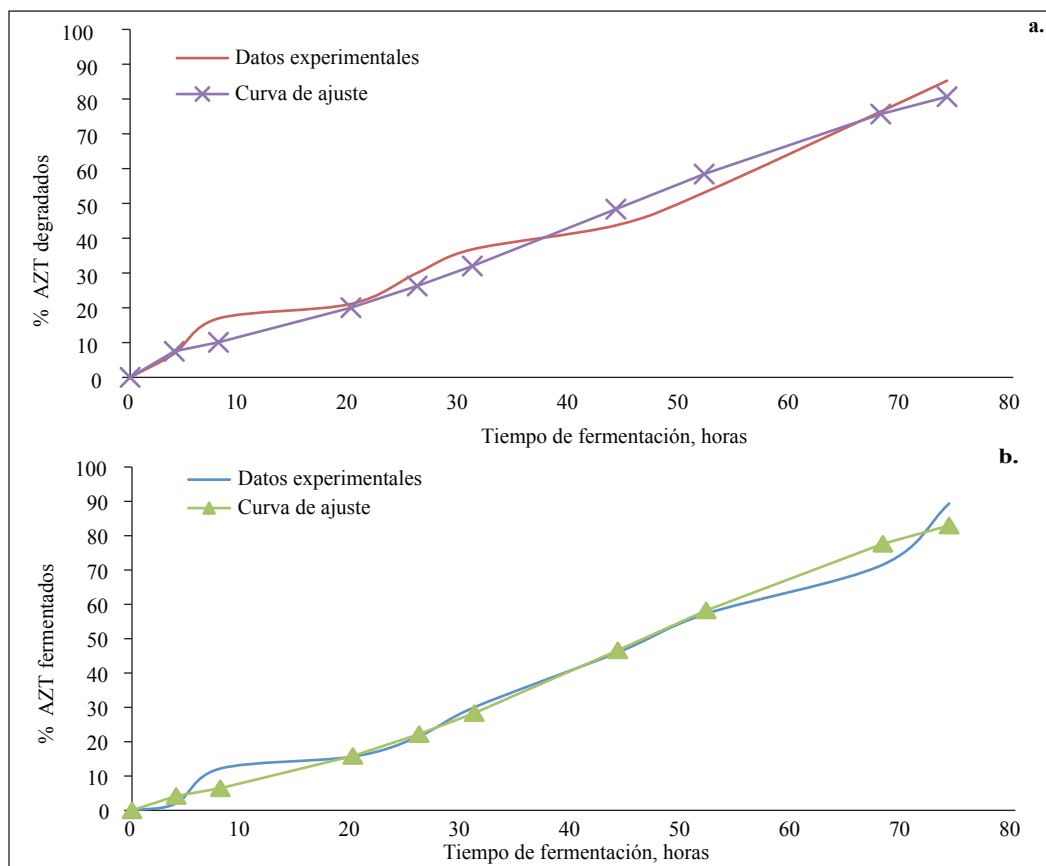


Figura 3. Porcentaje de degradación de **a.** azúcares totales y **b.** azúcares reductores, en la fermentación del mucílago de café.

Tabla 3. Contenido promedio de azúcares totales en el mucílago de café durante la fermentación, a temperatura ambiente.

Tiempo de fermentación (h)	Azúcares totales (%)	Azúcares totales-Ajuste (%)	Error	Cuadrado del error
0	6,788 a	6,431	0,357	0,127
4	6,323 a	6,278	0,044	0,002
8	5,638 b	6,103	-0,466	0,217
20	5,355 b	5,428	-0,073	0,005
26	4,750 c	5,005	-0,255	0,065
31	4,290 cd	4,616	-0,326	0,106
44	3,823 d	3,506	0,316	0,100
52	3,183 e	2,821	0,361	0,130
68	1,603 f	1,652	-0,049	0,002
74	1,000 g	1,312	-0,312	0,098
68	1,603 f	1,652	-0,049	0,002
74	1,000 g	1,312	-0,312	0,098

Valores con letras distintas para la variable medida indican diferencias estadísticas según la prueba Duncan al 5%.

Tabla 4. Contenido promedio de azúcares reductores en el mucílago de café durante la fermentación, a temperatura ambiente.

Tiempo de fermentación (h)	Azúcares reductores (%)	Azúcares reductores-Ajuste (%)	Error	Cuadrado del error
0	4,159 a	4,063	0,096	0,009
4	4,075 ab	3,985	0,090	0,008
8	3,653abc	3,892	-0,239	0,057
20	3,508 bcd	3,503	0,005	0,000
26	3,263 cd	3,240	0,023	0,001
31	2,910 d	2,987	-0,077	0,006
44	2,245 e	2,229	0,016	0,000
52	1,778 e	1,747	0,030	0,001
68	1,183 f	0,939	0,243	0,059
74	0,443 g	0,717	-0,275	0,075
68	1,603 f	1,652	-0,049	0,002
74	1,000 g	1,312	-0,312	0,098

Valores con letras distintas para la variable medida indican diferencias estadísticas según la prueba Duncan al 5%.

de la concentración de etanol del mucílago de café con el tiempo fermentación a temperatura de 20,5°C se ajustó a la Ecuación <7>. Los valores de los parámetros y los coeficientes de ajuste de esta ecuación para el porcentaje de etanol se presentan en las Tablas 5 y 6.

Las curvas que representan la formación de etanol durante la fermentación del mucílago de café se observan en la Figura 4a y tienen una forma sigmoidea que muestra un aumento de la concentración en forma exponencial en las primeras etapas, luego alcanza un valor máximo y después de este tiempo

Tabla 5. Parámetros de la ecuación de crecimiento de la producción de etanol durante la fermentación del mucilago de café, a temperatura ambiente.

Parámetro	Etanol	
	Valor	Desviación típica
P_0	0,093	0,011
P_{max}	0,497	0,023
k_p	0,064	0,008

Tabla 6. Coeficientes de ajuste de los parámetros de la ecuación de crecimiento de la producción de etanol en la fermentación del mucilago de café, a temperatura ambiente.

Coefficiente	Etanol
Observaciones	44
Grados de libertad	41
Coefficiente de determinación R^2	0,911
Suma de los cuadrados de los errores (residuales)	0,087
Media de los cuadrados de los errores	0,002
Raíz cuadrada de la media de los cuadrados de los errores	0,046
Iteraciones efectuadas	4

la concentración del producto se mantiene prácticamente constante.

Jackels y Jackels (16) y Avallone *et al.* (5) reportaron incrementos de etanol con el tiempo de fermentación del café, pero no mostraron relaciones entre las concentraciones y el tiempo de proceso.

Así, al igual que para el sustrato, en la cinética de producción de etanol durante la fermentación del mucilago de café se observó aumento de la velocidad de formación del producto con el tiempo hasta alcanzar un valor máximo de 0,008%/h a las 22 h, y luego esta velocidad disminuyó (Figura 4b). Se encontró un valor de 0,064 h⁻¹ para el coeficiente de velocidad de producción de etanol, así mismo, de la ecuación de producción del etanol se deduce que la máxima concentración se alcanzaría a las 120 h con un valor de 0,497%.

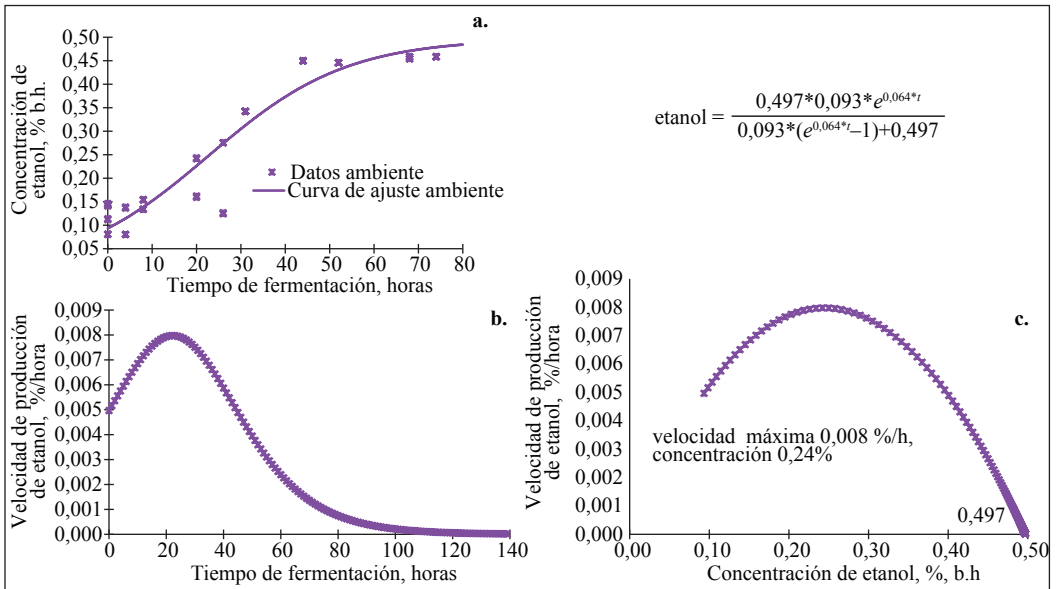


Figura 4. Cinética de la formación de etanol en la fermentación del mucilago de café a temperatura ambiente promedio 20,5°C. **a.** Concentración vs tiempo; **b.** Velocidad vs tiempo; **c.** Velocidad vs concentración.

La variación en las velocidades de producción de etanol se atribuye al consumo del sustrato y a la reducción de las levaduras debido a las condiciones ácidas y a la misma presencia del etanol en el medio. Después de 44 h de fermentación, los contenidos de etanol fueron significativamente mayores con respecto al contenido en el mucílago fresco y en los tiempos previos, además, no variaron significativamente hasta las 74 h. En este tiempo la velocidad de producción de alcohol se estimó en 0,0011%/h y la concentración en 0,479%.

En la Tabla 7 se comparan los valores promedio de la concentración del etanol de los datos experimentales con los valores obtenidos de la curva de ajuste en cada tiempo de fermentación. Con los contenidos promedios, el valor medio del cuadrado de los errores para la variable etanol fue de 0,001.

Cinética de la acidificación del mucílago de café. La acidez del mucílago de café es aportada por diversos ácidos como el acético, málico, láctico, cítrico, succínico y otros compuestos. El mucílago de café fresco presentó una acidez como ácido acético de 0,096% a 0,135%, con un promedio de 0,109%.

Estos contenidos aumentaron con el tiempo de fermentación. Rolz *et al.* (34), Menchú y Rolz (22) y Tchana y Jacquet (35) también reportaron valores mayores de la acidez volátil y total del mucílago fermentado con respecto al mucílago fresco. Igualmente, Avallone *et al.* (4) encontraron aumento de ácidos láctico y acético con el tiempo de fermentación del café.

La variación de la concentración de la acidez del mucílago de café con el tiempo de fermentación, a temperatura de 20,5°C se ajustó igualmente a una curva de forma sigmoidea (Figura 5a). Los valores de los parámetros y los coeficientes de ajuste de la Ecuación <7> para la variable porcentaje de acidez del mucílago de café con el tiempo de fermentación, a temperatura ambiente, se presentan en las Tablas 8 y 9.

La velocidad de producción de acidez durante la fermentación del mucílago de café aumentó rápidamente de 0,009%/h hasta un valor máximo de 0,015%/h, que se alcanzó entre las 21 y 22 h, y luego hubo una desaceleración de la fermentación láctica (Figura 5b).

Tabla 7. Contenido promedio de etanol en el mucílago de café durante la fermentación, a temperatura ambiente.

Tiempo de fermentación (h)	Etanol (%)	Etanol – Ajuste (%)	Error	Cuadrado del error
0	0,120 d	0,093	0,027	0,001
4	0,109 d	0,114	-0,005	0,000
8	0,144 cd	0,139	0,005	0,000
20	0,201 c	0,226	-0,025	0,001
26	0,200 c	0,274	-0,074	0,005
31	0,342 b	0,312	0,030	0,001
44	0,450 a	0,395	0,054	0,003
52	0,446 a	0,431	0,015	0,000
68	0,456 a	0,471	-0,015	0,000
74	0,458 a	0,479	-0,020	0,000

Valores con letras distintas para la variable medida indican diferencias estadísticas según la prueba Duncan al 5%.

Tabla 8. Parámetros de la ecuación de crecimiento de la acidificación del mucílago de café durante la fermentación, a temperatura ambiente.

Parámetro	Etanol	
	Valor	Desviación típica
P_0	0,132	0,012
P_{max}	0,789	0,020
kp	0,076	0,006

Tabla 9. Coeficientes de ajuste de los parámetros de la ecuación de crecimiento de la acidificación del mucílago de café durante la fermentación, a temperatura ambiente.

Coefficiente	Acidez
Observaciones	44
Grados de libertad	41
Coefficiente de determinación R^2	0,963
Suma de los cuadrados de los errores (residuales)	0,106
Media de los cuadrados de los errores	0,003
Raíz cuadrada de la media de los cuadrados de los errores	0,051
Iteraciones efectuadas	3

La constante de velocidad de producción de acidez resultó en promedio de $0,076 \text{ h}^{-1}$. A las 74 h de fermentación la velocidad de producción de acidez se estimó en $0,0011\%/h$ y la concentración en $0,775\%$. Así mismo, de la ecuación de producción de acidez se estimó que una concentración de $0,788\%$ se alcanzaría desde las 108 h y una máxima de $0,789\%$ a las 145 h.

La variación en las velocidades de producción de acidez se atribuye al consumo del sustrato y a la reducción de las bacterias debido a las condiciones ácidas. La concentración de acidez cambió significativamente desde las primeras horas y a través del tiempo de fermentación (Tabla 10).

Así, a las 20 h la acidez se triplicó con respecto a la del mucílago fresco. En la

Tabla 10 se comparan los valores promedio de la concentración de la acidez de los datos experimentales con los valores obtenidos de la curva de ajuste en cada tiempo de fermentación. De esta forma, el valor medio del cuadrado de los errores para los promedios de la variable acidez fue de $0,001$.

En resumen, mientras que la mayoría de los autores proponen la ecuación de Luedeking y Piret para describir la cinética de fermentación del producto y las ecuaciones de Hanson y Tsao y Monod para el consumo de sustrato (7, 17, 21, 23, 24), en las cuales se requieren datos de las concentraciones de la biomasa, las curvas con modelo logístico aplicadas en esta investigación, además de considerar implícitamente la bioquímica de crecimiento y fermentación de los microorganismos, presentan la ventaja que no requieren datos de las concentraciones de la biomasa.

La buena precisión de los modelos que se encontraron en esta investigación permite predecir en sistemas de fermentación *batch* del mucílago de café, las degradaciones y producciones en el tiempo, a temperatura ambiente. De esta forma, la velocidad de la fermentación del mucílago de café puede medirse en función de las degradaciones químicas, como el cambio en el tiempo de la concentración de los azúcares totales o reductores, y también en términos de la producción de acidez, ácidos y etanol.

A temperatura ambiente, la velocidad de degradación de los azúcares totales es mayor que la fermentación de los reductores. Igualmente, la velocidad de acidificación del mucílago es mayor que la velocidad de producción de etanol durante todo el tiempo de fermentación.

Se concluye que la cinética de degradación del sustrato y de formación de los ácidos y

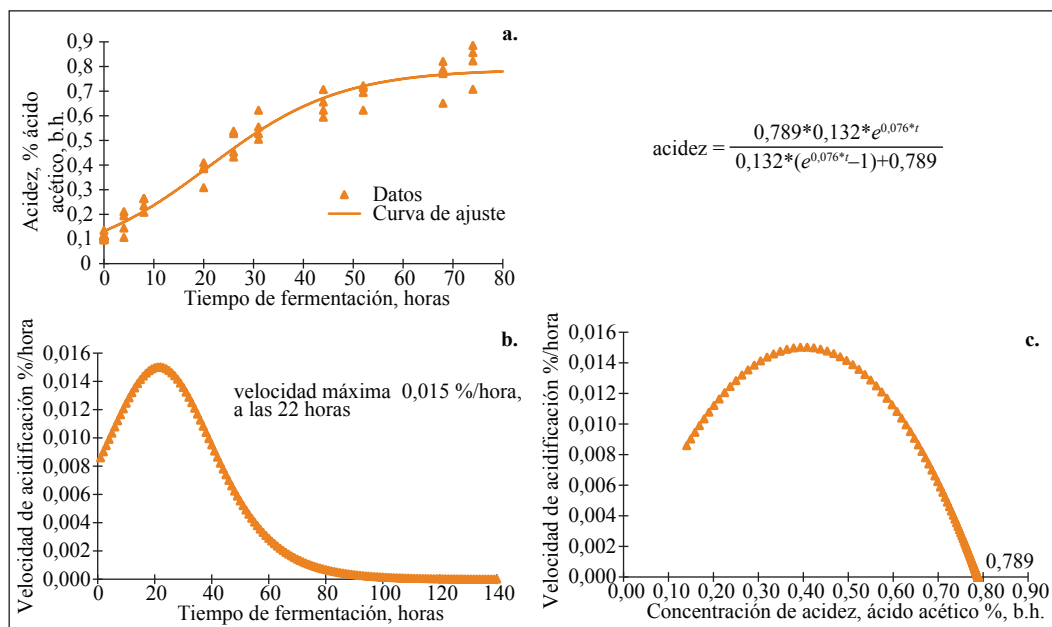


Figura 5. Cinética de la acidificación del mucílago de café durante la fermentación a temperatura ambiente promedio de 20,5°C. **a.** Concentración vs tiempo; **b.** Velocidad vs tiempo; **c.** Velocidad vs concentración. (Concentración expresada como % de ácido acético, b.h.)

Tabla 10. Contenido promedio de acidez como ácido acético en el mucílago de café durante la fermentación, a temperatura ambiente.

Tiempo de Fermentación (h)	Acidez (%)	Acidez –Ajuste (%)	Error	Cuadrado del error
4	0,164 g	0,169	-0,005	0,000
8	0,243 f	0,213	0,030	0,001
20	0,373 e	0,378	-0,006	0,000
26	0,488 d	0,468	0,020	0,000
31	0,552 d	0,537	0,015	0,000
44	0,645 c	0,672	-0,027	0,001
52	0,688 abc	0,720	-0,032	0,001
68	0,758 ab	0,767	-0,009	0,000
74	0,818 a	0,775	0,043	0,002

Valores con letras distintas para la variable medida indican diferencias estadísticas según la prueba Duncan al 5%.

de alcohol en la fermentación del mucílago de café presenta, al igual que el crecimiento exponencial de microorganismos, una primera fase en la que la velocidad es relativamente lenta, seguida de una fase muy rápida hasta alcanzar un valor máximo, posteriormente la tasa disminuye hasta que se estabiliza

y en este punto las concentraciones del sustrato y de los productos prácticamente no varían.

Las ecuaciones obtenidas para expresar la degradación de los azúcares y la producción de etanol y acidez durante la fermentación

del mucílago de café sirven para estimar el contenido de azúcares totales y reductores, alcohol y acidez del mucílago, según el tiempo de fermentación, así como el porcentaje de degradación en un tiempo determinado y las velocidades de degradación y formación a temperatura ambiente.

Con estos datos cinéticos pueden establecerse controles para detener el proceso de fermentación, de tal forma que se evite la formación de defectos como el vinagre y se asegure la obtención de café de buena calidad. Al mismo tiempo, a los industriales les permite mejorar el diseño del fermentador, y así optimizar técnica y económicamente los tiempos de fermentación, según las condiciones del proceso.

La acidificación en la fermentación se desarrolla por las bacterias fermentadoras, principalmente las lácticas que producen ácido láctico y por el ácido acético, producido por bacterias y de la acetificación del alcohol.

Se recomienda establecer la medida de la acidez química como control en la fermentación del café, debido a que mientras más tiempo permanezcan los granos de café inmersos en los ácidos formados en la fermentación, mayores riesgos de producción de defecto vinagre y sabores agrios en la bebida de café.

AGRADECIMIENTOS

A Sara Ríos A., Diana M. Muñoz N. y Kevin Hincapié V. Esta investigación fue financiada con recursos de la Federación Nacional de Cafeteros y hace parte de las actividades que se desarrollaron en el proyecto QIN0800, Caracterización y utilización del mucílago de café.

LITERATURA CITADA

1. AGUIRRE B., F. La utilización industrial del grano de café y de sus subproductos. Guatemala : ICAITI, 1966. 33 p.
2. ARIAS, M.; RUIZ C., A.A. Fermentación alcohólica de mucílago de café con levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Ciencia y tecnología de alimentos 11(1):66-74. 2001.
3. AOAC. Official methods of analysis of AOAC international. 18a. ed. Gaithersburg : AOAC, 2006.
4. AVALLONE, S.; BRILLOUET, J.M.; GUYOT, B.; OLGUIN, E.; GUIRAUD, J.P. Involvement of pectolytic microorganisms in coffee fermentation. International journal of food science and technology 37:191-198. 2002.
5. AVALLONE, S.; BRILLOUET, J.M.; GUYOT, B.; BRILLOUET, J.M.; OLGUIN P, E.; GUIRAUD, J.P. Microbiological and biochemical study of coffee fermentation. Current microbiology 42:252-256. 2001.
6. BAEZA, J.J. Conceptos básicos de cinética química. [En línea]. Valencia : Universidad de Valencia, 1997. Disponible en internet: <http://www.uv.es/baeza/cqtema3.html>. Consultado en febrero de 2012.
7. BOONMEE, M.; LEKSAWASDI, N.; BRIDGE, W.; ROGERS, P.L. Batch and continuous culture of *Lactococcus lactis* NZ133: Experimental data and model development. [En línea]. Massachusetts : Lycos, 2002. Disponible en internet: <http://www.angelfire.com/falcon/fe604/Paper4.pdf>. Consultado en enero de 2012.
8. BROCK, T.D.; MADIGAN, M.T. Biology of microorganisms. 6a. ed. New Jersey : Prentice-Hall, 1991. 874 p.
9. BURGUILLO, F.J. Ajuste de ecuaciones a curvas: Introducción a la regresión lineal y no lineal. [En línea]. Salamanca : Universidad de Salamanca, 2003. Disponible en internet: <http://web.usal.es/~burgui/simfit/ajustecurvas.pdf>. Consultado en febrero de 2012.
10. CABRERA, S. DE; CALZADA, J.F.; GIL, L.A.; ARRIOLA, M.C. DE. Etanol de cerezas y mucílago de café. p. 129-137. En: SIMPOSIO Internacional sobre la utilización integral de los subproductos del café. (3 : Febrero 16-18 1987 : Guatemala). Guatemala : ICAITI : ANACAFE : PNUMA, 1987. 162 p.

11. CALLE V., H. Subproductos del café. Chinchiná : Cenicafé, 1977. 84 p. (Boletín Técnico No. 6). pH. [En línea]. Temuco : Universidad de La Frontera, 2000. Disponible en internet: <http://dungun.ufro.cl/~CyT/Reactores/descargables/Luedeking.pdf>. Consultado en enero de 2012.
12. ELIAS, L.G. Composición química de la pulpa de café y otros subproductos. p. 19-29. En: PULPA de café : Composición tecnología y utilización. Bogotá : CIID, 1978. 152 p.
13. GADEN, E.L. Fermentation process kinetics. [En línea]. Journal of biochemical and microbiological technology and engineering 1:413-429. 1959. Disponible en internet: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jbmt.390010407/abstract>. Consultado en enero de 2012.
14. GONZALES, L.; SAAVEDRA, Z.; BARBA, A.P.; LEÓN, A. DE. Cinética de la fermentación para la producción de mezcál. [En línea]. México : SMBB, {s.f.}. Disponible en Internet: http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/puertovallarta03/TRABAJOS/AREA_II/CARTEL/CII-48.pdf. Consultado en enero de 2012.
15. HENAO, L.M.; CASTRILLON, J.; ARIAS, M. Fermentación láctica del mucílago de café. Ciencia y tecnología de alimentos 11(1):58-65. 2001.
16. JACKELS, S.C.; JACKELS, C.F. Characterization of the coffee mucilage fermentation process using chemical indicators: A field study in Nicaragua. Journal of food science 70(5):C321-C325. 2005.
17. JAKYMEC, M.; MORÁN, H.; PÁEZ, G.; FERRER, J.R.; MÁRMOL, Z.; RAMONES, E. Cinética de la producción de ácido láctico por fermentación sumergida con lactosuero como sustrato. [En línea]. Mérida : Universidad de Los Andes, {s.f.}. Disponible en internet: <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/27444/2/articulo8.pdf>. Consultado en enero de 2012.
18. LANDSBERG, J.J. Some useful equations for biological studies. Experimental agriculture 13:273-286. 1977.
19. LEVENSPIEL, O. Ingeniería de las reacciones químicas. 3a. ed. México : Wiley, 2004. 638 p.
20. LÓPEZ G., C.I.; BAUTISTA R., E.; MORENO G., E.; DENTAN, E. Factors related to the formation of "overfermented coffee beans" during the wet processing method and storage of coffee. p. 373-384. En: COLLOQUE Scientifique international sur le café. (13 : Aout 21-25 1989 : Paipa). Paris : ASIC, 1989. 783 p.
21. LUEDEKING, R.; PIRET, E.L. A kinetic study of the lactic acid fermentation: Batch process at controlled pH. [En línea]. Temuco : Universidad de La Frontera, 2000. Disponible en internet: <http://dungun.ufro.cl/~CyT/Reactores/descargables/Luedeking.pdf>. Consultado en enero de 2012.
22. MENCHU E., J.F.; ROLZ, C. Coffee fermentation technology. Café cacao The 17(1):53-61. 1973.
23. PASSOS, F.V.; FLEMING, H.P.; OLLIS, D.F. Kinetics and modeling of lactic acid production by Lactobacillus plantarum. Maryland : NCBI, 1994. [En línea]. Disponible en internet: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC201694/pdf/aem00024-0431.pdf>. Consultado en marzo de 2012.
24. PAULETTI, M.S.; SANTA C., L.; MAZZA, G.; ROZYCKI, S.; SABBAG, N.; COSTA, S. Fabricación de yogur con bacterias inmovilizadas. [En línea]. México : REDALYC, 2004. Disponible en internet: <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/724/72440307.pdf>. Consultado en enero de 2012.
25. PEE, W. VAN; CASTELEIN, J.M. Study of the pectinolytic microflora, particularly the enterobacteriaceae from fermenting coffee in the Congo. Journal of food science 37(1):171-174. 1972.
26. PEÑUELAM., A.E. Estudio de la remoción del mucílago de café a través de fermentación natural. Manizales : Universidad de Manizales, 2010. 82 p. Tesis: Magister en desarrollo sostenible y medio ambiente.
27. PUERTA Q., G.I. Fundamentos del proceso de fermentación en el beneficio del café. Chinchiná : Cenicafé, 2010. 12 p. (Avances Técnicos No. 402).
28. PUERTA Q., G.I. La humedad controlada del grano preserva la calidad del café. Chinchiná : Cenicafé, 2006. 8 p. (Avances Técnicos No. 352).
29. PUERTA Q., G.I. Riesgos para la calidad por la comercialización de café pergamino húmedo. Chinchiná : Cenicafé, 2008. 4 p. (Avances Técnicos No. 373).
30. PUERTA Q., G.I. Riesgos para la calidad y la inocuidad del café en el secado. Chinchiná : Cenicafé, 2008. 8 p. (Avances Técnicos No. 371).
31. PUERTA Q., G.I.; RIOSA, S. Composición química del mucílago de café, según el tiempo de fermentación y refrigeración. Cenicafé 62(2):23-40. 2011.
32. RODRÍGUEZ V., N.; RÍOS A., S. Caracterización del mucílago de café utilizado como materia prima para la producción de pectinas. En: INFORME anual de

actividades de investigación: Disciplina química industrial. Chinchiná : Cenicafé, 1999.

33. RODRÍGUEZ V., N.; ZAMBRANO F., D.A. Los subproductos del café: Fuente de energía renovable. Chinchiná : Cenicafé, 2010. 8 p. (Avances Técnicos No. 393).
34. ROLZ, C.; MENCHUE., J.F.; ESPINOSA, R.; GARCÍA P., A. Coffee fermentation studies. p. 259-269. En: COLLOQUE International sur la chimie des cafés. (5 : Junio 14-19 1971 : Lisboa). París : ASIC : 1971. 434 p.
35. TCHANA, E.; JACQUET, M.; GUYOT, B.; VINCENT, J.C. Etude de l'influence des conditions de fermentation sur les caractéristiques d'un café Arabica. p. 309-318. En: COLLOQUE Scientifique international sur le café. (11 : Fevrier 11-15 1985 : Lome). París : ASIC, 1985. 696 p.
36. SÁEZ V., A.A.; SOLARTE V., J.F.; SOLARTE M., A.M., HABEYCHN., D. Evaluación de un medio de cultivo a partir del fruto de prosopis juliflora. [En línea]. México : REDALYC, 2004. Disponible en internet: <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/215/21513503.pdf>. Consultado en marzo de 2012.
37. SCHLEGEL, H.G. Microbiología general. Barcelona : Omega, 1979. 448 p.
38. ULLOA I., J.T.; RODRÍGUEZ C., J.A. El modelo logístico: Una alternativa para el estudio del crecimiento poblacional de organismos. [En línea]. Málaga : veterinaria.org, {s.f.}. Disponible en internet: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030310/031004.pdf>. Consultado en enero de 2012.
39. VERHULST, P.F. Notice sur la loi que la population poursuit dans son accroissement. Correspondance mathématique et physique 10:113-121. 1838.