

EFFECTO DE ENZIMAS PECTOLÍTICAS EN LA REMOCIÓN DEL MUCÍLAGO DE *Coffea arabica* L., SEGÚN EL DESARROLLO DEL FRUTO

Gloria Inés Puerta-Quintero*

RESUMEN

PUERTA Q., G.I. Efecto de enzimas pectolíticas en la remoción del mucilago de *Coffea arabica* L., según el desarrollo del fruto. *Cenicafé* 60(4):291-312. 2009.

Se evaluó el efecto de enzimas pectolíticas en la remoción del mucilago de granos de *Coffea arabica*, obtenidos de frutos verdes, pintones, maduros y sin seleccionar, y además, se compararon con los procesos de fermentación natural del mucilago y el desmucilaginado mecánico. Durante los procesos se midieron el tiempo, la temperatura y el pH, y se determinó que a mayor concentración de las enzimas se requiere menor tiempo para completar la separación del mucilago del grano de café. Con concentraciones de 0,3 mL de enzima por litro de solución se logró separar el mucilago del grano en 6,4 h para el café maduro y 3,4 h para el café sin seleccionar, y no hubo efecto en el tiempo de remoción del mucilago del café pintón. Para los granos de café maduro, el pH inicial fue de 5,73 para la fermentación con agua, 5,36 para la fermentación sin agua y de 5,31 para la remoción con enzimas, y descendió al final de los procesos hasta valores de 4,19; 3,98 y 4,23 respectivamente. La temperatura inicial de los granos fue menor a la temperatura del aire, luego aumentó en un rango máximo de 22,3 a 26,5°C y al final de los procesos disminuyó hasta valores cercanos a la temperatura del aire. Las diferencias entre las temperaturas ambientes y los granos fueron mayores en el café pintón, en las bajas concentraciones de enzimas y en el café de fermentación con agua, debido a una menor actividad microbiana y enzimática, en comparación con los otros tratamientos. Aunque con estas enzimas se disminuye el tiempo para la remoción del mucilago y su uso facilitaría el procesamiento del café en los días de mayor cosecha, estos costos adicionales no se justifican en el beneficio del café, cuando el secado del grano no se realiza de forma inmediata después del lavado.

Palabras clave: Fermentación, beneficio húmedo, madurez, pectinasas, pH, temperatura.

ABSTRACT

The effect of pectinolytic enzymes on the removal of *Coffea arabica* beans mucilage obtained from unripe, semi-ripe, ripe and unselected fruits was assessed. In addition, that effect was compared to the processes of mucilage natural fermentation and mucilage mechanical removal. Time, temperature and pH values were measured during the processes, and it was concluded that the higher the enzymes concentration, the less time it takes to complete the separation of the mucilage from the coffee beans. With concentrations of 0.3 mL enzyme/L of solution, the removal of the mucilage was achieved in 6.4 h for ripe coffee and 3.4 h for unselected coffee, and there was no effect on the removal time of the semi-ripe coffee mucilage. For the ripe coffee beans, the initial pH was 5.73 for fermentation with water, 5.36 for fermentation without water, and 5.31 for removal with enzymes, and it decreased at the end of the processes up to 4.19, 3.98 and 4.23 respectively. The initial coffee beans temperature was lower than air temperature, then it increased to a maximum range from 22.3 to 26.5°C and at the end of the processes it decreased to nearly air temperature. The differences between ambient temperatures and coffee beans were higher in semi-ripe coffee fruits, in low enzymes concentrations and in water fermentation coffee due to a lower microbial and enzymatic activity compared to the other treatments. Although these enzymes decrease the mucilage removal time and their use might facilitate coffee processing in the most productive harvest days, these additional costs are not justified for coffee processing when bean drying is not performed immediately after washing.

Keywords: Fermentation, wet coffee processing, ripeness, pectinases, pH, temperature.

* Investigador científico III. Calidad y Manejo Ambiental. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé, Chinchiná, Caldas, Colombia.

El mucílago del café está compuesto por agua, azúcares, polisacáridos, proteínas, lípidos, minerales y ácidos. Los polisacáridos del mucílago contienen sustancias pécticas, como pectinas y ácidos pécticos, y también hemicelulosas, entre otros (6, 26, 36, 37). Además, en el mucílago de café se encuentran varios microorganismos como levaduras, bacterias lácticas y enterobacterias (35).

Las pectinas componen las cáscaras y el mucílago de los frutos de las plantas y están formadas principalmente por ácidos poligalacturónicos esterificados con grupos metilos. Estas sustancias se usan en la industria de mermeladas y farmacéutica por su capacidad para formar geles o jaleas con los azúcares y otros compuestos.

En los países que procesan el café por la vía húmeda, el mucílago se retira del grano de café por diferentes métodos: por la fermentación natural, que es un proceso bioquímico; por la remoción mecánica mediante equipos desmucilaginosos; o por medio de la adición de diferentes sustancias a los granos y frutos, con el fin de acelerar esta remoción.

La duración de la etapa de remoción del mucílago del café mediante la fermentación es distinta en los diferentes países cafeteros y puede requerir hasta más de 100 horas. Para café Arábica de Java se reportan 36 h (43), en Kenia y varios países del Este del África se suelen combinar períodos de fermentación de 16 a 24 h con períodos de inmersión de los granos de café en agua, durante 24 a 64 h (9, 14, 24, 44).

En Colombia, la remoción bioquímica del mucílago obtenido de frutos maduros dura generalmente de 12 a 18 h, para las condiciones de la zona cafetera, cuando la fermentación se hace sin adición de agua ni de otras sustancias. No obstante, en varias

fincas se acostumbra dejar los granos de café en el tanque de fermentación durante varios días, debido a la falta de capacidad de los secadores, entre otras razones.

Varios autores reportan que durante los tiempos prolongados de la fermentación ocurren pérdidas de peso del grano de café (4, 7, 8, 9, 10, 20, 23, 27, 32, 42, 44), por tal motivo con el fin de acelerar el proceso de la remoción del mucílago a los granos o a los frutos de café se les han adicionado diversas sustancias y medios como microorganismos, levaduras, bacterias y actinomicetos, enzimas, preparaciones pectolíticas, sales, ácidos, óxidos, hidróxidos, drenados finales de la misma fermentación y aguas residuales, entre otros. Así mismo, se han usado métodos mecánicos como la agitación de la masa de café, y máquinas como los desmucilaginosos mecánicos (1, 4, 7, 9, 10, 12, 14, 15, 18, 27, 32, 38, 39, 40, 42, 44).

La separación del mucílago del grano de café en el beneficio húmedo es necesaria para facilitar el secado del grano y también para producir bebidas suaves y sin sabores extraños. Cuando la remoción mecánica del mucílago del grano es incompleta o cuando los azúcares y los compuestos pécticos del mucílago no se degradan, ni remueven del grano en el lavado, este mucílago se descompone en las etapas siguientes del beneficio, como en el secado, y de esta forma se puede producir una coloración amarilla en la hendidura del grano y se presentan sabores nauseabundos y putrefactos en la bebida de café (33).

Las enzimas son sustancias que elaboran las células de los organismos vivos, como humanos, animales, microorganismos y vegetales. Estas sustancias son biocatalizadores, es decir, aceleran las reacciones químicas en las células y así aumentan la velocidad o cantidad de producto formado por unidad

de tiempo. También tienen la propiedad de actuar sobre un sustrato específico, del cual se obtiene uno o varios productos y, además, poseen forma y estructura particulares.

Algunas enzimas están formadas solo de proteínas, como las enzimas digestivas, las cuales se inactivan a temperaturas por encima de 60°C y por debajo de 0°C, y actúan en medios con un pH muy específico. Sin embargo, la mayoría de las enzimas están formadas por una proteína y por un cofactor o coenzima, el cual es una sustancia no proteica, como un ion metálico o un compuesto orgánico. El cofactor confiere más estabilidad térmica a la enzima completa. Muchas enzimas se destruyen solo por encima de 100°C (41).

La mayor parte de las enzimas son intracelulares, se elaboran en el interior de las células y catalizan reacciones dentro de las células. Algunas enzimas son extracelulares, se elaboran en el interior de las células y luego son eliminadas al exterior de éstas, donde desarrollan su función; éstas incluyen las enzimas digestivas, las proteasas, las enzimas pectolíticas y las celulasas, estas últimas pueden degradar componentes de la pared celular de los vegetales.

Las enzimas se usan en la industria de alimentos, textil, farmacéutica y de bebidas alcohólicas, entre otras. Son extraídas de algunas bacterias y hongos, de los cereales como la cebada, y del estómago de varios animales. Las enzimas industriales más importantes son las proteasas como las tripsinas, la papaína y la renina o cuajo y las carbohidrasas como las amilasas, las pectinasas, poligalacturonasa, la lactasa y las celulasas, y también se utilizan las lipasas como las lipolasas y las enzimas oxidativas, como las catalasas y las peroxidadas (17).

Las pectinasas son enzimas que se usan en la industria de vegetales, vinos, frutas y en

la producción de jugos para la clarificación, disminución de la viscosidad y aumento de los rendimientos de proceso. Estas enzimas se obtienen de hongos y bacterias mediante fermentaciones de varios sustratos. Las pectinasas comprenden la poligalacturonasa, pectinestearasa, pectinaliasa y pectatoliasa que catalizan la degradación del polímero de las sustancias pécticas en diferentes tipos de enlaces (Becker *et al.*, 1999, citado por Arroyo (3)). La poligalacturonasa presenta una actividad pectinolítica máxima a pH 3,5, según pruebas efectuadas con búfer acetato a pH 2,5 a 4,5 (El Sabed citado por Arroyo (3)), y se reportan valores óptimos de actividad de estas enzimas a pH 4,5 y temperatura de 50°C (Abdel *et al.*, citados por Arroyo (3)).

En la caficultura de países africanos, asiáticos y centroamericanos se han ensayado y usado diversas preparaciones de enzimas pectolíticas para acelerar la remoción del mucílago del café, y se ha logrado el desprendimiento del mucílago del grano de café despulpado en diferentes tiempos, dependiendo del tipo y concentración del preparado enzimático, así: 40 horas para café del Este del África (42), 9 horas en ensayos con café de Colombia (16), 2 horas en ensayos con café de Kenia, (24), y en una hora para café de India (23).

Algunos autores explican que la separación del mucílago del grano de café durante la fermentación ocurre debido a la acción combinada de los microorganismos y de las enzimas presentes en el mismo mucílago (1, 4, 12, 19, 25, 26, 33, 35). Sin embargo, Avallone *et al.* (5) indican que ni las levaduras, ni las bacterias del mucílago de café producen enzimas pectolíticas y que solo *Erwinia herbicola*, *Klebsiella pneumonie* y *Lactobacillus brevis* producen algunas enzimas, que no despolimerizan a las pectinas del mucílago de café en las condiciones usuales de la

fermentación. Estos autores también afirman que los polisacáridos del mucílago no se degradan completamente en la fermentación y que el desprendimiento del mucílago del grano de café ocurre por la acidificación del medio y no por las enzimas.

Por el contrario, se reporta que *Erwinia dissolvens* y otras *Enterobacteriaceae* producen enzimas que degradan las sustancias pécticas (13, 19, 31), y también que en frutos de café Robusta de India se encuentran levaduras con actividad pectolítica como *Saccharomyces marxianus*, *S. bayanus*, *S. cerevisiae* var. *ellipsoideus* y *Schizosaccharomyces* ssp. (30). Además, según varios autores la degradación del mucílago durante la fermentación está afectada por una enzima del mismo fruto del café (2, 11, 32, 37, 43).

Debido a las condiciones climáticas de las zonas cafeteras colombianas, en un cafetal se pueden encontrar diversos estados de maduración del fruto al momento de la cosecha y no es posible recolectar sólo frutos maduros, aunque se recomienda efectuar operaciones de separación de frutos pintones y verdes en el beneficio y procesar frutos maduros y sanos, con el fin de obtener un café de muy buena calidad en la bebida.

En esta investigación se evaluó el efecto de tres productos enzimáticos con actividad pectolítica en el tiempo de remoción del mucílago del grano de café, según el grado de madurez de los frutos procesados. Las eficiencias de esta remoción y las condiciones del proceso se compararon con la fermentación natural y con el desmucilaginado mecánico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización. El experimento se realizó en los laboratorios de La Granja en Cenicafé

(Chinchiná), localizados a 5° 00' latitud Norte, 75° 36' longitud Oeste y 1.310 m de altitud, donde se presentan las siguientes condiciones: temperatura media de 20,7°C, temperatura máxima de 27,4°C, temperatura mínima de 16,5°C y humedad relativa del 78%. Durante los días de ejecución de esta investigación, la temperatura del aire varió en el día de 14,4 a 30,2°C y en la noche de 13,8 a 24°C, según datos climáticos de la estación meteorológica de Cenicafé.

Origen del café. Se procesaron muestras de *Coffea arabica* L. de frutos rojos de la variedad Colombia de la cosecha principal del año 1993. El café fue cultivado 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, donde se presentan las siguientes condiciones medias: temperatura 21,3°C, humedad relativa 78%, precipitación anual de 2.634 mm, con 237 días de lluvia y brillo solar de 1.690 horas. El café se recolectó por lotes y semanas según el estado de maduración, el cual fue medido por las semanas transcurridas después de la floración, con el fin de obtener los estados verde, pintón y maduro para la conformación de los tratamientos. Los frutos y granos procesados no presentaron ningún daño por insectos.

Enzimas pectolíticas. Se ensayaron tres productos enzimáticos en estado líquido, suministrados por Coldanzimas (Novo-Nordisk) (Tabla 1) (21, 28, 29). Los productos denominados Novoferm11, Novoferm25 y Sp249 se mantuvieron en la nevera a 10°C hasta su uso, según las recomendaciones del fabricante. Se prepararon soluciones de 500 mL a 4L de cada producto enzimático en tres concentraciones 0,025, 0,175 y 0,3 mL.L⁻¹ por dilución en agua corriente de grifo, a temperatura ambiente. Las soluciones preparadas se mantuvieron a 10°C por un

Tabla 1. Especificaciones de las preparaciones enzimáticas usadas en la remoción del mucílago de café, 1993.

Producto enzimático	Tipo de enzima	Fuente de la enzima	Estado	Color	pH	Actividad óptima	pH soluciones
Novoferm11	Pectolítica, celulolítica, hemicelulolítica, proteolítica	<i>Aspergillus aculeatus</i> , <i>Aspergillus niger</i> y <i>Trichoderma reesei</i>	Líquido	Marrón	4,35	No especificado	7,12 a 7,29
Novoferm25	Pectolíticas y otros (no especificado)	No especificado	Líquido	Marrón	4,73	No especificado	7,16 a 7,4
Sp249	Pectolítica, celulolítica, hemicelulolítica, proteolítica, sacarolítica	<i>Aspergillus niger</i>	Líquido	Marrón	5,57	pH 3 a 7 y 35 a 45°C	7,03 a 7,19

tiempo máximo de 24 h, y se dejaron a temperatura ambiente por 4 h, antes de adicionarlas a los granos de café. Cada producto se mezcló manualmente con los granos para lograr uniformidad y una buena impregnación. Los procesos de remoción del mucílago se efectuaron en canecas plásticas y se terminaron cuando los granos lavados quedaban limpios y ásperos al tacto.

Diseño experimental. Se evaluaron 58 tratamientos con cuatro repeticiones, en un diseño completamente al azar: tres preparaciones de enzimas x tres concentraciones x cinco estados del fruto de café (maduro, pintón, pintón con remojo, verde y sin selección), con dos testigos de fermentación por cada estado del fruto, más tres tratamientos desmucilaginosos mecánicamente para los estados maduro, pintón y sin selección. La unidad experimental fue de 5 kg de café despulpado, excepto para el café verde y pintón con remojo, que fue de 5 kg de frutos. La descripción de los tratamientos y la dosificación se observan en la Tabla 2.

Mediciones de pH, temperatura y tiempo. Para cada uno de los tratamientos y muestras de café se midió la temperatura con termopares y el pH con potenciómetro digital, en tres

puntos al azar (encima, en el medio y en el fondo) de la masa de café, a través del tiempo de los procesos, hasta el lavado de los granos.

Procesamiento de los frutos de café verdes.

Del 6 al 9 de septiembre de 1993 se ejecutaron los tratamientos correspondientes a los frutos de café verdes. Para la repetición 1, se pesaron los frutos, se despulparon sin agua y, luego, se prepararon al azar 11 muestras correspondientes a las tres concentraciones para cada uno de los tres productos enzimáticos, más los dos testigos, uno de fermentación natural sin adición de agua y otro al que se adicionó agua corriente hasta cubrir los granos, 3 cm por encima de la cantidad de café procesado. No se logró el despulpado de los frutos verdes de café; sin embargo, estos frutos se dejaron con las soluciones enzimáticas durante 17 horas adicionales y después se despulparon de nuevo, se lavaron y se secaron al sol en bandejas metálicas. Para las otras repeticiones con los frutos verdes, éstos se remojaron en agua y en las soluciones enzimáticas por diferentes tiempos. Así, se dejaron tres muestras de 5 kg en agua por 16,5, 22,5 y 90 horas, luego se despulparon y se dejaron con las enzimas o en fermentación según el tratamiento, durante 22, 16,5 y 7 horas, y posteriormente se lavaron. También

Tabla 2. Descripción de los tratamientos para la evaluación del efecto de enzimas en la remoción del mucílago de café.

Tratamiento	Estado del fruto de café	Tipo de proceso	Sustancia adicionada	Concentración (mL enzima/L solución)	Volumen adicionado de la sustancia (mL)	Concentración (mL enzima/kg café)	Dosis (mL/kg café)
33	Verde*	Fermentación natural sin agua	Ninguna	0,000	0	0,0000	0
34	Verde	Fermentación natural con agua	Agua	0,000	4.000	0,0000	800
35	Verde	Con enzimas	Novoferm11	0,025	4.000	0,0200	800
53	Verde	Con enzimas	Novoferm11	0,175	4.000	0,1400	800
36	Verde	Con enzimas	Novoferm11	0,300	4.000	0,2400	800
37	Verde	Con enzimas	Novoferm25	0,025	4.000	0,0200	800
54	Verde	Con enzimas	Novoferm25	0,175	4.000	0,1400	800
38	Verde	Con enzimas	Novoferm25	0,300	4.000	0,2400	800
39	Verde	Con enzimas	Sp249	0,025	4.000	0,0200	800
55	Verde	Con enzimas	Sp249	0,175	4.000	0,1400	800
40	Verde	Con enzimas	Sp249	0,300	4.000	0,2400	800
1	Pintón	Fermentación natural sin agua	Ninguna	0,000	0	0,0000	0
2	Pintón	Fermentación natural con agua	Agua	0,000	1.000	0,0000	200
3	Pintón	Con enzimas	Novoferm11	0,025	1.000	0,0050	200
41	Pintón	Con enzimas	Novoferm11	0,175	1.000	0,0350	200
4	Pintón	Con enzimas	Novoferm11	0,300	1.000	0,0600	200

Continúa ...

...continuación

Tratamiento	Estado del fruto de café	Tipo de proceso	Sustancia adicionada	Concentración (mL enzima/L solución)	Volumen adicionado de la sustancia (mL)	Concentración (mL enzima/kg café)	Dosis (mL/kg café)
5	Pintón	Con enzimas	Novoferm25	0,025	1.000	0,0050	200
42	Pintón	Con enzimas	Novoferm25	0,175	1.000	0,0350	200
6	Pintón	Con enzimas	Novoferm25	0,300	1.000	0,0600	200
7	Pintón	Con enzimas	Sp249	0,025	1.000	0,0050	200
43	Pintón	Con enzimas	Sp249	0,175	1.000	0,0350	200
8	Pintón	Con enzimas	Sp249	0,300	1.000	0,0600	200
9	Pintón con remojo	Fermentación natural sin agua	Ninguna	0,000	0	0,0000	0
10	Pintón con remojo	Fermentación natural con agua	Agua	0,000	4.500**	0,0000	900
11	Pintón con remojo	Con enzimas	Novoferm11	0,025	4.500	0,0225	900
44	Pintón con remojo	Con enzimas	Novoferm11	0,175	4.500	0,1575	900
12	Pintón con remojo	Con enzimas	Novoferm11	0,300	4.500	0,2700	900
13	Pintón con remojo	Con enzimas	Novoferm25	0,025	4.500	0,0225	900
45	Pintón con remojo	Con enzimas	Novoferm25	0,175	4.500	0,1575	900
14	Pintón con remojo	Con enzimas	Novoferm25	0,300	4.500	0,2700	900
15	Pintón con remojo	Con enzimas	Sp249	0,025	4.500	0,0225	900
46	Pintón con remojo	Con enzimas	Sp249	0,175	4.500	0,1575	900

Continúa ...

...continuación

Tratamiento	Estado del fruto de café	Tipo de proceso	Sustancia adicionada	Concentración (mL enzima/L solución)	Volumen adicionado de la sustancia (mL)	Concentración (mL enzima/kg café)	Dosis (mL/kg café)
16	Pinitón con remojo	Con enzimas	Sp249	0,300	4.500	0,2700	900
17	Maduro	Fermentación natural sin agua	Ninguna	0,000	0	0,0000	0
18	Maduro	Fermentación natural con agua	Agua	0,000	500	0,0000	100
19	Maduro	Con enzimas	Novoferm11	0,025	500	0,0025	100
47	Maduro	Con enzimas	Novoferm11	0,175	500	0,0175	100
20	Maduro	Con enzimas	Novoferm11	0,300	500	0,0300	100
21	Maduro	Con enzimas	Novoferm25	0,025	500	0,0025	100
48	Maduro	Con enzimas	Novoferm25	0,175	500	0,0175	100
22	Maduro	Con enzimas	Novoferm25	0,300	500	0,0300	100
23	Maduro	Con enzimas	Sp249	0,025	500	0,0025	100
49	Maduro	Con enzimas	Sp249	0,175	500	0,0175	100
24	Maduro	Con enzimas	Sp249	0,300	500	0,0300	100
25	Sin seleccionar	Fermentación natural sin agua	Ninguna	0,000	0	0,0000	0
26	Sin seleccionar	Fermentación natural con agua	Agua	0,000	1.000	0,0000	200
27	Sin seleccionar	Con enzimas	Novoferm11	0,025	1.000	0,0025	200
50	Sin seleccionar	Con enzimas	Novoferm11	0,175	1.000	0,0175	200
28	Sin seleccionar	Con enzimas	Novoferm11	0,300	1.000	0,0300	200

Continúa ...

...continuación

Tratamiento	Estado del fruto de café	Tipo de proceso	Sustancia adicionada	Concentración (mL enzima/L solución)	Volumen adicionado de la sustancia (mL)	Concentración (mL enzima/kg café)	Dosis (mL/kg café)
29	Sin seleccionar	Con enzimas	Novoferm25	0,025	1.000	0,0025	200
51	Sin seleccionar	Con enzimas	Novoferm25	0,175	1.000	0,0175	200
30	Sin seleccionar	Con enzimas	Novoferm25	0,300	1.000	0,0300	200
31	Sin seleccionar	Con enzimas	Sp249	0,025	1.000	0,0025	200
52	Sin seleccionar	Con enzimas	Sp249	0,175	1.000	0,0175	200
32	Sin seleccionar	Con enzimas	Sp249	0,300	1.000	0,0300	200
56	Maduro	Desmucilaginado mecánico	Ninguna	0,000	0***	0,0000	0
57	Pintón	Desmucilaginado mecánico	Ninguna	0,000	0***	0,0000	0
58	Sin seleccionar	Desmucilaginado mecánico	Ninguna	0,000	0***	0,0000	0

* Unidad experimental: 5 kg de café despulpado, excepto para el café verde y pintón con remojo que fue de 5 kg de frutos

** 4.000 mL en remojo y 500 mL después de despulpado

*** 2 L/kg de café para el desmucilaginado mecánico

se estimó el porcentaje en peso de granos completamente despulpados en submuestras de 200 g de cada tratamiento.

Procesamiento de los frutos pintones de café. Los tratamientos del café pintón se realizaron durante el 14 al 21 de septiembre. Para cada repetición se pesó el café recibido, se despulpó sin agua y se conformaron al azar las 11 unidades experimentales diarias, de café despulpado, de 5 kg cada una. Después de las remociones y fermentaciones, se lavaron y secaron al sol o en estufa hasta alcanzar una humedad del 10% al 12%.

Procesamiento de los frutos pintones de café con remojo. Para los tratamientos 9, 10, 11, 44, 12, 13, 45, 14, 15, 46 y 16, a los frutos sin despulpar se le adicionaron 4 L de las soluciones preparadas de las enzimas, se dejaron durante 20 h, con el fin de lograr un ablandamiento antes del despulpado. Posteriormente se adicionaron 500 mL de los productos enzimáticos correspondientes a cada tratamiento, después de las remociones, los granos se lavaron y secaron hasta una humedad del 10% al 12%. Estos tratamientos se efectuaron del 13 al 25 de septiembre.

Procesamiento de los frutos maduros de café. Entre el 27 de septiembre al 5 de octubre de 1993 se realizaron las cuatro repeticiones de los tratamientos del café maduro. Se adicionaron 500 mL de los productos enzimáticos a los granos despulpados, después de la separación del mucílago, los granos se lavaron y secaron.

Procesamiento de los frutos de café sin seleccionar. Entre el 5 y el 12 de octubre de 1993 se procesaron las cuatro repeticiones de los tratamientos 25, 26, 27, 50, 28, 29, 51, 30, 31, 52 y 32, se requirieron 1.000 mL para lograr la homogeneización de los granos con la solución enzimática. El grado de madurez promedio del café usado para estos procesos se presenta en la Tabla 3. Los granos de café se lavaron y secaron del mismo modo que en los tratamientos anteriores.

Desmucilaginado mecánico. Este método se utilizó en el tratamiento (tto.) 56 con café maduro, el tto. 57 con café pintón y el tto. 58 con café sin seleccionar, cuya composición se presenta en la Tabla 4.

Tabla 3. Grado de madurez del café sin seleccionar, procesado en las evaluaciones de enzimas para la remoción del mucílago de café.

Estado de desarrollo del fruto de café	Promedio (%)	Mínimo (%)	Máximo (%)	C.V. (%)
Verde	3,0	1,4	5,2	46,5
Pintón	22,1	10,7	33,3	31,1
Maduro	41,3	19,0	56,7	27,6
Sobremaduro	21,1	8,1	31,6	31,5
Seco	12,6	6,0	18,6	37,6

Tabla 4. Grado de madurez del café sin seleccionar procesado por desmucilaginado mecánico.

Estado de desarrollo del fruto de café	Promedio (%)	Mínimo (%)	Máximo (%)	C.V. (%)
Verde	5,1	4,6	5,6	8,8
Pintón	35,1	32,4	37,5	6,0
Maduro	44,2	41,5	47,9	6,3
Sobremaduro	11,8	10,8	12,8	6,9
Seco	3,9	2,7	4,9	23,4

Análisis de resultados. Se efectuó el análisis estadístico descriptivo para las variables tiempo de remoción del mucilago, pH y temperatura, y el análisis de varianza y las pruebas de comparación de las medias con nivel de confianza 95% (Tukey) entre los tratamientos, los tipos y concentraciones de las preparaciones enzimáticas y el estado de madurez del fruto de café procesado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

pH durante la remoción del mucilago de café

El promedio del pH inicial para el café maduro procesado por la fermentación con agua fue 5,73 y para la fermentación sin agua fue 5,36; estos valores descendieron después de 20 horas hasta 4,19 y 3,98 respectivamente. En el caso del café pintón, los valores promedio del pH inicial fueron 5,57 para la fermentación con agua y 5,32 sin agua, y los valores finales fueron 4,20 y 3,21 respectivamente. Para el café sin seleccionar el promedio de los valores iniciales fue de 5,35 y 5,21 en las fermentaciones con y sin agua, respectivamente, y descendieron hasta 4,17 y 3,38 después de 19,5 horas.

El pH de los frutos verdes procesados por las fermentaciones naturales se mantuvo

cerca al valor inicial, que varió de 6,08 sin agua a 6,21 cuando se le adicionó agua. Para el café pintón que se dejó en remojo y luego en fermentación, con un tiempo de procesamiento de cerca de 40 h, se obtuvieron valores promedio de pH final de 3,89 en las fermentaciones con agua y 3,41 cuando no se adicionó agua. El rango de pH encontrado en esta investigación está dentro de los valores reportados en la literatura que son de 6,0 a 3,5 (10, 37), pero diferente al pH final de 4,6 a 3,9 reportado por otros autores (22).

Para todos los estados de madurez, el pH inicial de los granos de café con agua fue mayor en comparación con la fermentación en seco, debido al pH del agua adicionada, que varió de 6,0 a 6,5 y los valores finales del pH de las fermentaciones sin agua fueron más ácidos que para la fermentación con agua, para todos los estados de madurez, como lo mostrado por Menchu y Rolz (26), pero contrario a los resultados de Wootton (43), quien indica que el pH final de la fermentación con agua es más bajo que cuando se efectúa la fermentación en seco, debido a una mayor formación de ácidos.

Para fermentaciones de 22 muestras de café de Guatemala se observó disminución del pH y del contenido de carbohidratos

con el tiempo, y cuando se usó agua la fermentación se aceleró al mantener el pH entre 6 y 8 (37). De otra parte, en Nicaragua se interrumpió la fermentación cuando el pH era de 4,6; 4,3 y 3,9 y no fue evidente la relación entre el pH del café lavado y la calidad del café tostado (22).

Por otra parte, los valores de pH bajan durante la fermentación debido a la formación de ácidos acético y láctico a partir de los azúcares (12, 43). En 1977 se encontró que el tiempo de remoción del mucílago y el pH disminuyen al aumentar la madurez de los frutos y con la demora entre la recolección y el despulpado (20).

En la Tabla 5 se observa la variación del pH de los granos de café, según las concentraciones de las preparaciones enzimáticas y el estado de madurez del fruto procesado. Los valores promedio del pH inicial de los procesos enzimáticos fueron 5,31 para el café maduro, 5,10 para pintón, 5,07 sin seleccionar, 6,15 para el café verde y 4,77 para el café pintón dejado en remojo antes del despulpado. En promedio, los valores de pH finales fueron de 4,23 para el café maduro, 3,62 para el pintón, 4,11 para el café sin seleccionar, 5,41 para el café verde y 4,14 para el café pintón procesado con remojo.

Las diferencias no fueron significativas entre los tipos de preparación enzimática para ninguna de las concentraciones evaluadas, ni para los estados de madurez del fruto. Para los procesos de remoción mediante las enzimas, el pH final del café pintón varió de 3,55 a 3,83, valores que resultaron menores que los valores de pH finales del café maduro, que variaron de 4,05 a 4,35; y del café sin seleccionar que estuvieron entre 3,74 a 4,51 en promedio.

De otra parte, se encontró que los valores de pH de los granos durante el proceso de

la remoción enzimática están dentro de los valores de actividad óptima reportados para las pectinasas.

Temperatura de los procesos de remoción del mucílago de café

La temperatura inicial de los granos varió de 21,8 a 25,0°C y la del aire de 24,4 a 25,4°C. La temperatura inicial de los granos fue de 2,0 a 3,0°C menor a la temperatura ambiente para los granos verdes y pintones en todos los procesos de remoción evaluados; menor en 1,8°C para el café maduro, 0,7°C menor para el café sin seleccionar y 1,0°C inferior para el café pintón en remojo.

La temperatura máxima de los granos de café durante las remociones varió de 22,3 a 26,5°C y la del aire de 27,1 a 30,2°C. Así, para todos los estados de madurez del café la temperatura máxima del aire fue mayor a la temperatura máxima alcanzada por los granos durante los procesos de fermentación y de remoción mediante las enzimas (Figura 1); las mayores diferencias se encontraron para el café verde y pintón, con una diferencia de 6,2°C promedio, 4,5°C para los pintones en remojo y el café sin seleccionar y 3,7°C para el café maduro. Esto indica una mayor actividad microbiana y enzimática en los procesos del café maduro, con respecto a los otros estados de madurez.

Se encontró una mayor actividad en las fermentaciones sin agua para todos los estados de madurez, con diferencias promedio de -3,4°C en la temperatura máxima alcanzada de los granos con respecto a la máxima temperatura del aire, en tanto que la fermentación con agua presentó una diferencia de -5,3°C; estas diferencias fueron significativas y se debieron a una mayor concentración del sustrato cuando no se adiciona agua. Los resultados concuerdan con las conclusiones de otros autores (20) quienes indicaron variación de

Tabla 5. Variación del pH de los procesos de separación del mucilago de café mediante enzimas, según la madurez del fruto.

Preparación enzimática concentración	Estado de madurez del fruto de café											
	Verde		Pintón sin despulpar en remojo		Pintón con remojo y fermentación		Pintón		Maduro		Sin seleccionar	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Nov11-0,025	6,19	5,55	6,21	4,81	5,05	4,27	5,34	3,55	5,54	4,42	5,22	4,41
Nov11-0,175	6,11	5,43	6,17	4,56	4,68	4,23	5,27	3,66	5,24	4,15	4,93	4,42
Nov11-0,300	6,19	5,44	6,14	4,50	4,46	4,07	4,77	3,51	5,05	4,35	4,98	4,51
Nov25-0,025	6,31	5,55	6,28	4,51	4,95	4,12	5,34	3,59	5,51	4,55	5,09	3,74
Nov25-0,175	6,22	5,44	6,22	4,55	4,68	4,68	4,86	3,71	5,22	4,05	5,06	4,03
Nov25-0,300	6,13	5,40	6,20	4,67	4,64	4,15	4,93	3,57	5,08	4,12	5,05	3,93
Sp249-0,025	6,13	5,28	6,13	4,51	4,92	3,97	5,39	3,59	5,54	4,16	5,25	3,95
Sp249-0,175	6,07	5,19	6,14	4,61	4,84	3,85	5,14	3,57	5,36	4,17	5,09	4,00
Sp249-0,300	6,01	5,37	6,05	4,45	4,70	3,92	4,89	3,83	5,28	4,11	4,95	3,98

Nov 11: Novoferm 11; Nov 25: Novoferm 25.

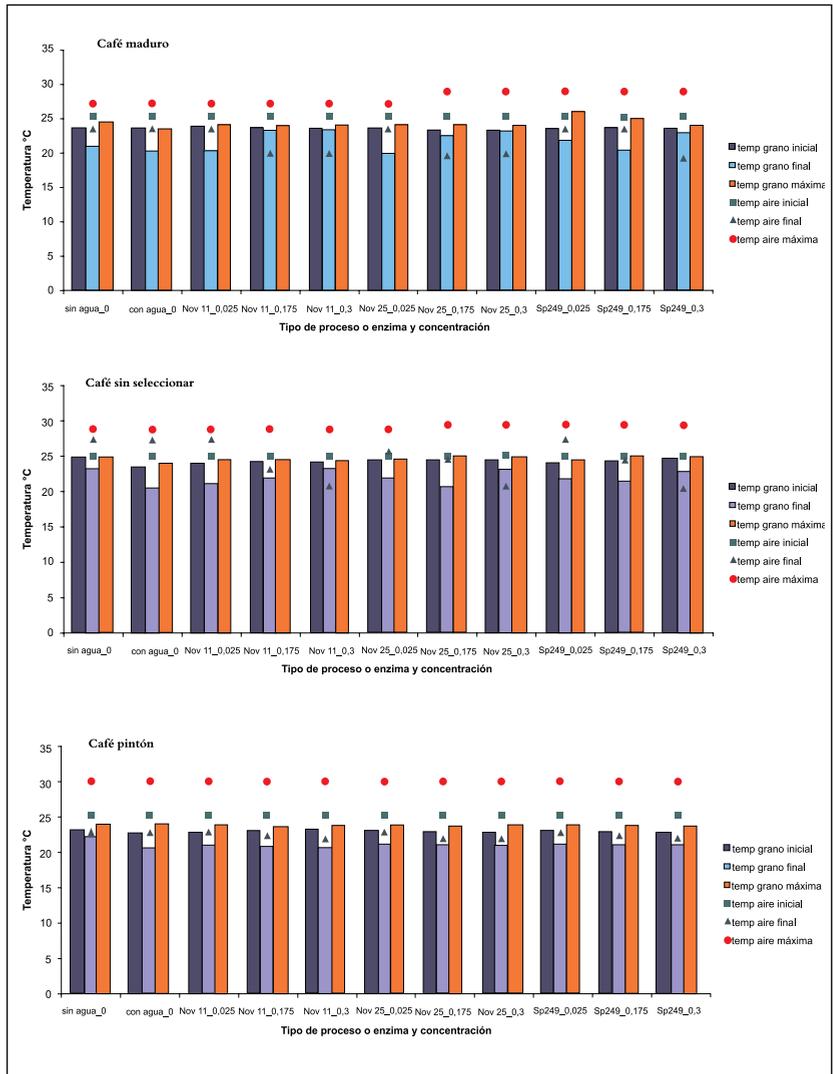


Figura 1. Valores promedio de las temperaturas inicial, final y máxima del aire y de los granos, durante la remoción del mucilago de café de granos provenientes de frutos maduros, sin seleccionar y pintones.

la temperatura en las fermentaciones con los diferentes grados de madurez del fruto de café procesado.

En general, la temperatura final de los granos varió de 19,9 a 24,6°C y la del aire de 19,2 a 27,4°C. La temperatura final de los granos fue menor a la temperatura del ambiente en cerca de 2,9°C para los granos

maduros de las fermentaciones con y sin agua, y de los procesos enzimáticos en las concentraciones bajas; en 4,2°C para los granos sin seleccionar, de las fermentaciones con y sin agua, y de los procesos enzimáticos en las concentraciones bajas y medias, y en 1,3°C en el café pintón de todos los procesos; y para el café verde fue superior en 1,0°C a la temperatura del aire para la fermentación

con agua y de remoción mediante enzimas, y en 3,8°C en la fermentación sin agua.

Se encontró un valor mayor de la temperatura final de los granos de café con respecto a la temperatura ambiente en los procesos con las enzimas en las concentraciones superiores, las cuales terminaron más rápido. Esto indica la liberación de energía en forma de calor y una mayor actividad para los tratamientos con las enzimas en altas concentraciones. De otra parte, se observó que las temperaturas de los procesos de remoción del mucílago de café mediante las enzimas fueron inferiores a los valores de actividad óptima de las enzimas pectolíticas.

En ensayos de fermentación con café en Puerto Rico, a temperaturas entre 23,3 y 35,6°C, no se estableció ninguna relación de la temperatura, con la duración de la fermentación, ni con la cantidad total del mucílago desprendido, ni con la pérdida de materia seca del pergamino (8).

Efecto de las enzimas en el tiempo de remoción del mucílago de café

En la Tabla 6 se presentan los resultados de la estadística descriptiva según la madurez de los frutos de café y la concentración de la enzima. En las Tablas 7, 8, 9 y 10 se observan las diferencias estadísticas entre los tiempos de remoción, según los tipos de remoción del mucílago del grano de café, para cada estado de madurez.

Café verde. No se logró el despulpado de los frutos verdes de café, los cuales quedaron prácticamente con toda su pulpa. Se encontró que el 85% en peso de los frutos verdes procesados presentaron la pulpa adherida al grano; este café se clasificó como pasilla y no fue apto para la prueba de taza. De otro lado, los granos de los frutos verdes que sí despulparon fueron blancos y

presentaron textura dura, mientras que los frutos parcialmente despulparados mostraron manchas de color marrón debido a la adsorción de las preparaciones enzimáticas.

En conclusión, después 36,5 h en promedio de remojo de los frutos de café verdes en las soluciones enzimáticas o en el agua, y adicionalmente de 11,4 h en promedio para la etapa de remoción o de fermentación, se observó que las preparaciones enzimáticas no tienen ningún efecto positivo en el procesamiento de café recolectado verde para las concentraciones utilizadas en este experimento, es decir, no hay ablandamiento de la pulpa, ni aceleración del proceso.

Café pintón. Para los procesos de fermentación natural y con enzimas se requirieron de 16,5 a 20,5 h para el desprendimiento del mucílago del café pintón. No hubo diferencias significativas entre los procesos de fermentación sin agua y el proceso con agua, ni entre los procesos de fermentación natural y los procesos enzimáticos, ni entre las concentraciones de cada producto. Para el desmucilaginado mecánico se requirió de 0,07 h, es decir, 4 minutos para la remoción del mucílago, lo que explica la diferencia significativa encontrada entre el desmucilaginado y los otros procesos para el café pintón.

Café pintón con remojo. El tiempo de procesamiento para estos tratamientos prácticamente se duplicó, se requirieron en promedio 18 h para el remojo, con el cual se buscó un ablandamiento de la pulpa y posteriormente un tiempo de remoción del mucílago, que varió entre 4,0 y 22,5 h, por lo tanto, el tiempo promedio de estos procesos fue 29,6 h. No se observaron diferencias significativas entre los procesos de fermentación natural con los procesos enzimáticos en la concentración más baja para los tres productos, pero sí entre estos cinco

Tabla 6. Tiempo de remoción del mucílago del grano de café, según la concentración de la preparación enzimática y el grado de madurez del fruto de café.

Estado de madurez del fruto de café	Enzima	Concentración (mL enzima /L)	Horas			
			Promedio	Mínimo	Máximo	C. V. %
Pintón	Novoferm11	0,025	17,75	16,50	20,50	10,4
	Novoferm11	0,175	17,50	16,50	19,50	7,7
	Novoferm11	0,300	17,25	16,50	18,50	5,0
	Novoferm25	0,025	17,75	16,50	20,50	10,4
	Novoferm25	0,175	17,50	16,50	19,50	7,7
	Novoferm25	0,300	17,25	16,50	18,50	5,0
	Sp249	0,025	17,75	16,50	20,50	10,4
	Sp249	0,175	17,50	16,50	19,50	7,7
	Sp249	0,300	17,25	16,50	18,50	5,0
Pintón con remojo	Novoferm11	0,025	35,13	22,00	42,50	25,7
	Novoferm11	0,175	22,75	22,00	25,00	6,6
	Novoferm11	0,300	22,75	22,00	25,00	6,6
	Novoferm25	0,025	35,13	22,00	42,50	25,7
	Novoferm25	0,175	22,88	22,00	25,50	7,7
	Novoferm25	0,300	22,88	22,00	25,50	7,7
	Sp249	0,025	39,50	37,50	42,50	5,5
	Sp249	0,175	22,88	22,00	25,50	7,7
	Sp249	0,300	22,75	22,00	25,00	6,6
Sin seleccionar	Novoferm11	0,025	19,50	18,50	21,00	5,5
	Novoferm11	0,175	7,13	3,00	18,50	106,6
	Novoferm11	0,300	3,38	3,00	4,50	22,2
	Novoferm25	0,025	15,13	3,50	19,50	51,3
	Novoferm25	0,175	11,25	3,00	19,50	79,7
	Novoferm25	0,300	3,88	3,00	6,00	37,1
	Sp249	0,025	19,50	18,50	21,00	5,5
	Sp249	0,175	11,50	3,50	19,50	75,5
	Sp249	0,300	4,25	3,00	6,00	31,1
Maduro	Novoferm11	0,025	18,88	17,00	20,00	7,6
	Novoferm11	0,175	7,13	3,00	17,00	93,2
	Novoferm11	0,300	6,38	2,00	17,00	111,5
	Novoferm25	0,025	18,88	17,00	20,00	7,6
	Novoferm25	0,175	7,88	3,50	17,00	78,3
	Novoferm25	0,300	7,00	3,00	17,00	95,5
	Sp249	0,025	18,88	17,00	20,00	7,6
	Sp249	0,175	18,88	17,00	20,00	7,6
	Sp249	0,300	7,75	4,50	17,00	79,6

Tabla 7. Efecto de las enzimas en el tiempo de remoción del mucílago de café, según el tipo de proceso para el café pintón.

Proceso de café pintón	Promedio (h)	Mínimo (h)	Máximo (h)	C.V. (%)
Fermentación con agua	17,75 A	16,50	20,50	10,4
Fermentación sin agua	17,63 A	16,50	20,50	6,9
Desmucilaginado mecánico	0,07 B	0,07	0,07	0
Novoferm11	17,50 A	16,50	20,50	7,4
Novoferm25	17,50 A	16,50	20,50	7,4
Sp249	17,50 A	16,50	20,50	7,4

* Letras diferentes indican diferencia estadística (Tukey 5%) entre tiempos para cada proceso de remoción del mucílago.

Tabla 8. Efecto de las enzimas en el tiempo de remoción del mucílago de café, según el tipo de proceso para el café pintón con remojo.

Proceso de café pintón con remojo	Promedio (h)	Mínimo (h)	Máximo (h)	C.V. (%)
Fermentación con agua	39,50 A	37,50	42,50	5,5
Fermentación sin agua	39,50 A	37,50	42,50	5,5
Novoferm11	26,88 B	22,00	42,50	28,9
Novoferm25	26,96 B	22,00	42,50	28,8
Sp249	28,38 B	22,00	42,50	29,5

* Letras diferentes indican diferencia estadística (Tukey 5%) entre tiempos para cada proceso de remoción del mucílago.

Tabla 9. Efecto de las enzimas en el tiempo de remoción del mucílago de café, según el tipo de proceso para el café sin seleccionar.

Proceso de café sin seleccionar	Promedio (h)	Mínimo (h)	Máximo (h)	C.V. (%)
Fermentación con agua	19,50 A	18,50	21,00	5,5
Fermentación sin agua	18,50 A	17,50	21,00	6,9
Desmucilaginado mecánico	0,07 B	0,07	0,07	0
Novoferm11	10,00 C	3,00	21,00	82,5
Novoferm25	10,08 C	3,00	19,50	78,5
Sp249	11,75 C	3,00	21,00	67,9

* Letras diferentes indican diferencia estadística (Tukey 5%) entre tiempos para cada proceso de remoción del mucílago.

Tabla 10. Efecto de las enzimas en el tiempo de remoción del mucílago de café, según el tipo de proceso para el café maduro.

Proceso de café maduro	Promedio (h)	Mínimo (h)	Máximo (h)	C.V. (%)
Fermentación con agua	18,88 A	17,00	20,00	7,6
Fermentación sin agua	18,19 A	17,00	20,00	6,6
Desmucilaginado mecánico	0,06 B	0,03	0,07	28,6
Novoferm11	10,79 C	2,00	20,00	73
Novoferm25	11,25 C	3,00	20,00	65,9
SP249	15,17 A	4,50	20,00	42,5

* Letras diferentes indican diferencia estadística (Tukey 5%) para cada proceso de remoción del mucílago.

tratamientos con los procesos enzimáticos en las concentraciones media y alta. Entre los tres productos y para las concentraciones de 0,175 y sin enzimas entre sí, no se presentaron diferencias significativas al 5%.

Café sin seleccionar. El tiempo de remoción del mucílago para el café no seleccionado varió entre 4 min. para el desmucilaginado mecánico hasta 19,5 h para el proceso de fermentación natural con agua. Se presentaron diferencias significativas entre los procesos de fermentación natural y los procesos Novoferm11 y Sp249 en las concentraciones más bajas, con los otros procesos enzimáticos. También hubo diferencias significativas entre las concentraciones de los productos enzimáticos pero no entre los tres productos para la concentración alta, ni media entre sí. Para el café sin seleccionar se requirieron entre 3,4 y 21,0 h cuando se usaron enzimas, y se requirió en promedio 10,6 h.

Café maduro. El tiempo promedio de remoción del mucílago para el café maduro varió entre 3,5 min. para el desmucilaginado mecánico y 18,9 h para el proceso de fermentación natural con agua. Para los procesos

enzimáticos varió entre 10,79 h (Novoferm11) y 15,17 h (Sp249). Se presentaron diferencias significativas para el café maduro, entre la remoción por desmucilaginado mecánico y los otros tratamientos, así como entre los tratamientos de los procesos enzimáticos en las concentraciones más bajas, y los tratamientos de fermentación natural con los tratamientos enzimáticos en las concentraciones altas. Con el tratamiento enzimático Novoferm11 en la mayor concentración se requirieron en promedio 6,38 h para el desprendimiento del mucílago de los granos del café maduro.

En conclusión, con las preparaciones Novoferm11, Novoferm25 y Sp249 disminuyó el tiempo requerido para la remoción del mucílago de café, dependiendo del grado de madurez y de la concentración del producto utilizado. A mayor concentración se requiere menor tiempo para completar la separación del mucílago del grano de café, resultados que coinciden con los obtenidos por Gallego y Salazar (20), quienes afirman que a medida que aumenta la concentración de las enzimas disminuye en forma lineal el tiempo requerido para la remoción del mucílago del café.

Con el producto Novoferm11 se requirió el menor tiempo para ambos estados, café maduro y sin seleccionar, seguido del producto Novoferm25. Se requirió menor tiempo para el café no seleccionado que para el café maduro, debido probablemente al alto porcentaje de café sobremaduro, que varió entre 8,1% y 31,6%, con un promedio de 21,0%.

El menor tiempo para la remoción del mucílago del café se obtuvo con el desmucilagador mecánico, con el cual sólo se requirieron de 3 a 4 min.

La concentración de 0,025 mL de enzimas/L no tuvo efecto significativo en la disminución del tiempo de remoción, en comparación con los procesos de fermentación natural. Tampoco hubo efecto significativo en la disminución del tiempo de remoción del mucílago mediante enzimas en el café pintón y, por lo tanto, no se recomienda utilizar estas enzimas para el remojo de los frutos, debido a que se duplica el tiempo de proceso y se producen defectos en la bebida de café.

Por el contrario, en otros trabajos Gallego y Salazar (20), reportaron que para acelerar el proceso de fermentación en el café recién recolectado no se justificaba la aplicación de enzimas en los granos sobremaduros, pero sí se recomendaban altas concentraciones de enzimas pectolíticas para el café pintón, y en dosis intermedias en el grano maduro.

De otra parte y para comparación, se presentan algunos resultados del uso de enzimas en el beneficio del café, en los cuales no se especifica el grado de madurez de los frutos procesados. En estudios realizados en Kenia y Tanzania, el mucílago del grano despulpado se removió completamente en 40 h, con las enzimas Pectozyme y Cofepec, en proporción en peso de 0,25% enzima/grano de café despulpado, y también se reporta que se obtuvo café de buena calidad

con la adición de enzimas en el proceso de fermentación durante 16 h, seguido de un lavado de los granos y posterior inmersión de éstos en agua por 24 a 48 h (43).

Así mismo, en Kenia se removió el mucílago en 16 h con la adición de 125 g de Ultrazym20 por tonelada de café o con 25 g de Ultrazym 100, y en 2 h cuando se agregaron 120 g de Ultrazim 100 por tonelada de café despulpado, y se indicó que estos valores podrían ajustarse según las condiciones de temperatura (4, 24). En India, el mucílago se retiró en 1 h mediante preparados del 2,0 al 2,5% p/v de enzimas pécicas obtenidas de *Aspergillus carbonarius*, adicionados a los granos de café despulpados a temperaturas de 25 a 30°C, en comparación con las 36 a 48 h requeridas para la fermentación natural (23).

En Colombia, en ensayos realizados en 1977, se redujo el tiempo para el proceso de remoción del mucílago de los granos de café mediante Ultrazym100, según las condiciones de recolección y maduración (20); sin embargo, Dávila *et al.* (16) mediante la adición de enzimas no encontraron ventajas respecto a la fermentación natural, debido a que dependiendo de las dosis se requirieron de 4 a 16 h para la remoción del mucílago, con incrementos de los costos de producción del café.

Algunos autores, como Wooton y Brownbridge (44) indican que la principal mejora en el aspecto del grano de café se debe a la inmersión del grano de café lavado en agua durante 24 ó 48 horas, operación que facilita la difusión de sustancias colorantes de los granos al agua, pero no se presentan datos de esta posible mejora en la apariencia del grano. Además sugieren que las enzimas no son costosas, y que podrían usarse para evitar dependencia de las condiciones ambientales en el beneficio del café (44).

Tchana *et al.* (40) recomiendan el uso de enzimas en lugares donde la fermentación requiere más de 40 h y sugieren que esto permitiría reducir los requerimientos de espacio en los beneficiaderos de café.

En conclusión, los productos enzimáticos evaluados sí disminuyen el tiempo requerido para el desprendimiento del mucílago del grano de café, con respecto a la fermentación. Las diferencias en los tiempos de remoción se debieron a los grados de madurez del café y a la composición de los preparados que contenían acciones combinadas celulolítica, hemicelulolítica, proteolítica o sacarolítica además de la actividad pectolítica.

Según la evaluación económica, asumiendo costos iguales de los productos enzimáticos, Novoferm11 en concentración superior a 0,175 proporcionó los mejores resultados, debido a que desprendió el mucílago del grano maduro y sin seleccionar, en menor tiempo que los otros preparados enzimáticos (34). El uso de estas enzimas facilitaría el procesamiento del café en los días de mayor cosecha, no obstante, se concluye que cuando el secado de café no se realiza inmediatamente después del lavado, los costos adicionales de estas enzimas no se justifican en el beneficio del café.

AGRADECIMIENTOS

Al personal de la Estación Naranjal y del Programa de Experimentación por el suministro del café y la colaboración en el beneficio. Al doctor Bernardo Cháves C. por su asesoría estadística, al doctor Gerardo Chamorro T. por la evaluación económica y a la empresa Coldanzimas por el suministro de las enzimas.

LITERATURA CITADA

1. AGATE, A.D.; BHAT, J.V. Role of pectinolytic yeasts in the degradation of mucilage layer of coffee Robusta cherries. *Applied microbiology* 14(2):256-260. 1966.
2. AMORIM, H.V. DE; AMORIM, V.L. Coffee enzymes and coffee quality. p. 27-56. En: *ENZYME in food and beverage processing*. Washington : American chemical society, 1977. 325p.
3. ARROYO O., A.G. Producción de enzimas pectinasas por actinomycetos en cultivo sumergido utilizando pectina y cáscara de naranja. [En línea]. Lima : Universidad nacional mayor de San Marcos. Facultad de farmacia y bioquímica, 2002, 58 p. Tesis: Título obtenido. Disponible en Internet: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/tesis/Salud/Arroyo_O_A/T_completo.pdf Consultado en enero 2010.
4. ARUNGA, R.O. Enzymatic fermentation of coffee. *Kenya coffee* 38(453):354-357. 1973.
5. AVALLONE, S.; BRILLOUET, J.M.; GUYOT, B.; OLGUIN, E.; GUIRAUD, J.P. Involvement of pectolytic micro-organisms in coffee fermentation. *International journal of food science and technology* 37:191-198. 2002.
6. AVALLONE, S.; GUIRAUD, J.P.; GUYOT, B.; OLGUIN P., E.; BRILLOUET, J.M. Polysaccharide constituents of coffee-bean mucilage. *Journal of Food Science* 65(8): 1308-1311. 2000.
7. BARBOSA, L.F.; PARREIRA, P.; ICUNO, H.; LOURENCO, S.; GOMES, F.P.; CAMPOS, H. DE. Influencia do tempo de degomagem sobre o rendimento do café despulpado. *Sao Paulo : Secretaria de agricultura*, 1963. 27 p.
8. BOYCE, D.S. Processing yield from parchment coffee demucilaged mechanically and by natural fermentation. *Journal of agriculture of the university of Puerto Rico* 46(4):334-341. 1962.
9. BROWNBRIDGE, J.M.; SIUM, M. Coffee processing research in Ethiopia; fermentation and its effect on liquor quality. *Kenya coffee* 36(426):207-214. 1971.
10. BUTTY, M. Rapid fermentation of coffee. *Kenya coffee* 38(448):214-224. 1973.

11. CABELLO V, A.; RUIZ, J.S.; ORIHUELA A., M.L. Bacterial pectinase production using coffee pulp as substrate. *Revista latinoamericana de microbiología* 24(3):173-180. 1982.
12. CALLE V, H. Algunos métodos de desmucilaginado y sus efectos sobre el café pergamino. *Cenicafé* 16:3-11. 1965.
13. CASTELEIN, J.M.; PILNIK, W. The properties of the pectate-lyase produced by *Erwinia dissolvens*, a coffee fermenting organism. *Lebensmittel-Wissenschaft und technologie* 9(5):277-283. 1976.
14. COFFEE RESEARCH FOUNDATION. Fermentation, final washing and final grading. *Kenya coffee* 40(473/474):243-246. 1975.
15. DAVIES, E. DEL.; JONES, M.A. Cafepro: máquina para remover químicamente el mucilago del café recién despulpado. *Turrialba* 3(4):151-155. 1953.
16. DÁVILA A., M.T.; QUICENO O., A.L.; ZULUAGA V., J. Evaluación del producto Biocoffenzyme en la remoción del mucilago de café. *Chinchiná : Cenicafé*, 1991. p.v.
17. DELLWEG, H. *Biotechnologie*. Weinheim : VCH, 1987. 324 p.
18. EHLERS, G.M. Possible applications of enzymes in coffee processing. p. 267-271. En: *COLLOQUE Scientifique international sur le café*. (9 : Junio 16-20 1980 : Londres). Paris : ASIC, 1980. 403p.
19. FRANK, H.A.; LUM, N.A.; CRUZ, A.S. DELA. Bacteria responsible for mucilaged-layer decomposition in Kona coffee cherries. *Applied microbiology* 13(2):201-207. 1965.
20. GALLEGOP, M.; SALAZARS, S. Efecto de la adición de enzimas pectolíticas sobre la fermentación natural del café y comparación con algunos acelerantes de la remoción del mucilago. *Manizales : Universidad de Caldas*, 1977. 118 p.
21. HERNÁNDEZ M., R.; FRIEND, P.L. Enzyme treatment for industrial slime control. [En línea]. Estados Unidos Betz Laboratorios, 1993. Disponible en Internet: <http://www.freepatentsonline.com/5238572.html> . (Consultado en enero 2010).
22. JACKELS, S.C.; JACKELS, C.F.; VALLEJOS, C.; KLEVEN, S.; RIVAS, R.; FRASER D., S. Control of the coffee fermentation process and quality of resulting roasted coffee: Studies in the field laboratory and on small farms in Nicaragua during the 2005-06 harvest. p. 434-442. En: *COLLOQUE Scientifique international sur le café* (21 : Septiembre 11-15 2006 : Montpellier). Paris : ASIC, 2006. s.p.
23. JALEEL, S.A.; SREEKANTIAH, K.R. Application of fungal pectic enzymes in coffee curing. *Journal of food science and technology* 21(1):5-8. 1984.
24. KULABA, G.W. Coffee processing research: a review. *Kenya coffee* 44(520):23-34. 1979.
25. MASOUD, W.; CESAR, L.B.; JESPERSEN, L.; JAKOBSEN, M. Yeast involved in fermentation of *Coffea arabica* in East Africa determined by genotyping and by direct denaturing gradient gel electrophoresis. *Yeast* 21:549-556. 2004.
26. MENCHU E., J.F.; ROLZ, C. Coffee fermentation technology. *Café cacao* 17(1):53-61. 1973.
27. NORTHMORE, J.M. Sodium Bisulphite in coffee fermentation. *Kenya coffee* 31(365):217, 219-221. 1966.
28. NOVO NORDISK. Bioindustrial group. Dinamarca : Novo Nordisk, 1991. 12 p.
29. -----. *Enzimas campos de aplicación*. Dinamarca : Novo Nordisk, 1992. 49 p.
30. PEE, W. VAN; CASTELEIN, J. The yeast flora of fermenting robusta coffee. *East african agricultural and forestry journal* 36(3):308-310. 1971.
31. -----. Study of the pectinolytic microflora, particularly the enterobacteriaceae from fermenting coffee in the Congo. *Journal of food science* 37(1):171-174. 1972.
32. PEREIRA, J., JR. Método rápido da liberacao da mucilagem do café despulpado pela ativacao de suas proprias enzimas : Degomagem rápida do café despulpado em contraste com a fermentacao prolongada mucilagem bruta liberada. *Arquivos do instituto biológico* 24:93-103. 1957.
33. PUERTA Q., G.I. Cómo garantizar la buena calidad de la bebida del café y evitar los defectos. *Chinchiná : Cenicafé*, 2001. 8 p. (Avances Técnicos No. 284).
34. -----. Evaluación de varias preparaciones de enzimas pectolíticas de la empresa Coldanzimas a nivel de laboratorio, en el proceso de fermentación del beneficio de café. *Chinchiná : Cenicafé*, 1994. 108 p.

35. PUERTA Q., G. I.; MARÍN M., J. OSORIO B., G.A. Composición microbiológica del mucilago de café. p.44-45. En: INFORME anual de actividades de investigación. Disciplina Química industrial. Chinchiná. Cenicafé, 1996, p.v
36. PUERTA Q., G. I.; RÍOS A., S. Composición química del mucilago de café. p. 2-3. En: INFORME anual de actividades de investigación. Disciplina Química industrial. Chinchiná. Cenicafé, 1996, p.v.
37. ROLZ, C.; MENCHUE, J.F.; ESPINOSA, R.; GARCIA 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. 434p.
38. SANIN B., O.; VALENCIAA., G. Actividad enzimática en el grano de café en relación con la calidad de la bebida : Duración de la fermentación. Cenicafé 21(2):59-71. 1970.
39. SCHARRER, R. Contribución al estudio de la fermentación del café. Revista cafetera de Colombia 8(110):2917-2924. 1942.
40. TCHANA, E.; JACQUET, M.; GUYOT, B.; VINCENT, J.C. Etude de l'influence des conditions de fermentation sur les caracteristiques d'un café Arabica. p. 309-318. En: COLLOQUE Scientifique international sur le café (11 : Febrero 11-15 1985 : Lomé). París : ASIC, 1985. 695p.
41. TREVAN, M.D.; BOFFEY, S.; GOULDING, K.H.; STANBURY, P. Biotecnología: Principios biológicos. Zaragoza : Acribia, 1990. 284 p.
42. VÁSQUEZ M., R.; MONTERO, M. Pérdida de sólidos del endospermo del café durante el beneficiado. p. 543-547. En: SIMPOSIO sobre caficultura latinoamericana. (14 : Mayo 20-24 1991 : Ciudad de Panamá). Tegucigalpa : IICA : PROMECAFE, 1994. 587p.
43. WOOTTON, A.E. The importance of field processing to the quality of East African coffees. p. 247-258 En: COLLOQUE International sur la chimie des cafés verts torréfiés et leurs dérivés. (2 : Mayo 3-7 1965 : París). París : I.F.C.C., 1965. 261p.
44. ----- The use of pectic enzyme preparations in coffee processing. Kenya coffee 31(366):253-255. 1966.