

Treatment of wastes generated in the production of coffee grain (coffee pulping) to obtain carbohydrates through acid hydrolysis

Gilberto de Jesús Colina Andrade¹, José Ramón Ferrer², Gisela Páez², Zulay Mármol², Gladys Urbaneja³, Lilia Arenas de Moreno⁴, and Luis Sandoval⁴

¹Dpto. de Ingeniería Sanitaria, Escuela de Ingeniería Civil, Telf. (061)512214.

²Dpto. de Ingeniería Bioquímica, Escuela de Ingeniería Química, Telf. (061)598529. Facultad de Ingeniería, Universidad del Zulia, Apartado 526. Maracaibo, Venezuela.

³Dpto. de Química, Escuela de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería Universidad de los Andes. Telf (074) 402951. Mérida, Venezuela.

⁴Laboratorio de Cromatografía, Instituto de Investigaciones Agronómicas Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia, Apartado 526. Maracaibo, Venezuela

Abstract

The acid hydrolysis process of coffee pulp wastes from the Municipio Escuque, Trujillo was studied in this work. The hydrolyzed pulp has proper sugar concentrations (xylose, arabinose, fructose, glucose and total sugars), which make it into an useful substratum for producing metabolites (alcohols, acids, aldehydes, ketones, etc.) by fermentative processes, and for producing biomass (single-cell protein) via aerobic bioprocesses. A variance analysis was done using the General Linear Model of the Statistical Analysis System (S.A.S.). Sulphuric acid concentrations, the period of time spent in the hydrolysis process and the interaction between both aspects were highly significant ($P < 0.01$) for the sugar content. Time only influences against xylose and arabinose sugars, the sulphuric acid concentration influences in proportion to the content of every variable, excepting fructose, with 240 min and 1.5% acid as the best conditions. The best results of the hydrolyzed pulp were: arabinose and glucose with 56.64 ± 33.42 and 37.68 ± 15.85 g/kg dry pulp, respectively. Total sugars obtained are 128.64 ± 48.69 g/kg dry pulp.

Key words: Hydrolysis, pulping, coffee, lignocellulosic, carbohydrates.

Tratamiento de los desechos generados en la producción del grano de café (pulpa de café) para la obtención de carbohidratos por hidrólisis ácida

Resumen

En el presente trabajo se estudió el proceso de hidrólisis ácida de desechos de pulpa de café, provenientes del Municipio Escuque del Estado Trujillo. El hidrolizado presenta concentraciones adecuadas de azúcares (xilosa, arabinosa, fructosa, glucosa y azúcares totales), lo cual lo convierte en un sustrato útil para la producción de metabolitos (alcoholes, ácidos, aldehídos, cetonas, etc.), mediante procesos fermentativos y para producción de biomasa (Proteína Unicelular) vía bioproceso aeróbico. Se realizó un análisis de varianza mediante el Modelo Lineal General del Sistema de Análisis Estadístico (S.A.S.). La concentración de ácido sulfúrico, el tiempo empleado en el proceso de hidrólisis y la interacción de ambos efectos, fueron altamente significativos ($P < 0.01$) para el contenido de los azúcares. El tiempo

influye inversamente sólo para la xilosa y arabinosa; la concentración de ácido sulfúrico influye proporcionalmente con el contenido de todas las variables a excepción de la fructosa; siendo las mejores condiciones 240 min y 1.5% de ácido. Los mayores rendimientos promedios en el hidrolizado fueron: arabinosa y glucosa con 56.64 ± 33.42 y 37.68 ± 15.85 g/kg respectivamente, seguido por la fructosa con 29.09 ± 7.36 g/kg y la xilosa con 15.36 ± 11.10 g/kg de pulpa seca, respectivamente. Los azúcares totales obtenidos representan 128.64 ± 48.69 g/kg de pulpa seca.

Palabras clave: Hidrólisis, pulpa, café, lignocelulósico, carbohidratos.

Introducción

La producción de residuos sólidos está vinculada, al incremento de la población y si se utiliza la producción estimada por persona, día a día, se tendrá una proyección cuantitativa aproximada del problema. Según la ley de la conservación de las masas, la materia no se crea ni se destruye, sólo se transforma. Esta ley fundamental significa que los materiales de desecho permanecen disponibles para su empleo en el planeta (al menos teóricamente). Aunque esta disponibilidad teórica y la utilidad práctica distan mucho entre sí, ya que los costos para recobrar la mayoría de estos elementos exceden al costo de su obtención de fuentes naturales. Como resultado, los residuos son descargados como desechos a las márgenes de ríos, lagos, o zonas cercanas a los centros de producción, causando problemas ambientales, estéticos y una pérdida de recursos naturales, aunado a los problemas sanitarios que se generan en las poblaciones circundantes [1].

La utilización de residuos agrícolas, fundamentalmente, cumple objetivos importantes tales como mejorar el uso de los recursos existentes, incrementar la base para la producción de alimentos, y la reducción de los problemas ambientales causados por la acumulación y las descargas indiscriminadas de tales residuos [2]. Se ha utilizado directamente un buen número de tales residuos como alimentos para animales, éstos incluyen: fibra de piña, bagazo de caña de azúcar, plantas, desechos de café, etc. La mayoría ha permitido alimentar a rumiantes en niveles de 5 a 20% del alimento total sin efectos adversos [2]. El etanol es otro producto que puede ser obtenido de estos residuos ricos en azúcares; la fermentación de estos materiales envuelve:

- a) la disponibilidad de un suministro continuo de materiales fermentables;
- b) la conversión del material bruto en un medio conveniente por fermentación mediante

levaduras como por ejemplo la *Saccharomyces cerevisiae*;

- c) fermentación del medio de cultivo para obtener alcohol; y
- d) recuperación y purificación del etanol [2].

En este trabajo se ha tomado como estudio la pulpa o concha del café en cereza, ya que representa el mayor desecho generado en la producción del grano de café. El café es ampliamente conocido, producido y distribuido a nivel mundial. En Venezuela se producen alrededor de 17.000 ton de café, que corresponden al 55,4% de los materiales obtenidos en el proceso de producción y 8.807 ton. de pulpa que representa el 28,7%, el 15,9% restante corresponde a otros desechos generados en el proceso (mucilago y cascarrilla), actualmente se exportan unas 12.000 ton. de café [3-4].

En Venezuela así como en Centroamérica, y otras regiones productoras de café, la pulpa es raramente utilizada, y por tanto, se considera el material contaminante más abundante de lagos y ríos ubicados cerca de las zonas cafetaleras [5].

La pulpa de café es un material sólido relativamente rico en azúcares solubles; está formada por grandes polímeros como la celulosa, hemicelulosa y lignina, entre otros que contienen los carbohidratos más abundantes del mundo. Este desecho ha formado parte de la alimentación para rumiantes, específicamente el ganado bovino ya que el tracto digestivo de estos animales puede fermentar estos carbohidratos, por la acción de microorganismos presentes en su metabolismo; sin embargo, no todos los carbohidratos son digeridos porque ellos están física y químicamente enlazados en el complejo celulósico (celulosa, hemicelulosa, y lignina), razón por la cual, se hace necesario procesar la pulpa mediante una hidrólisis, que permita el rompimiento de la pared celular para liberar los carbohidratos y mejorar así el valor alimenticio de los residuos

cosechados. La hidrólisis de la celulosa catalizada por ácidos es uno de los mejores procesos que está siendo actualmente desarrollado como parte integral de la conversión de la biomasa [6-7].

La mayoría de las determinaciones tanto cualitativas como cuantitativas de los carbohidratos han sido limitadas a determinaciones de azúcares reductores totales y/o no reductores, cuyo método analítico está basado en la reducción de una solución alcalina de cobre por los azúcares reductores. Sin embargo, la utilización de la cromatografía líquida de alta presión (H.P.L.C), ha permitido una rápida caracterización y cuantificación de muchos carbohidratos significativos, tanto desde el punto de vista agronómico como nutricional [8].

Debido a lo anteriormente expuesto, esta investigación tiene como objetivo fundamental, evaluar la factibilidad de procesar los desechos generados en la producción del grano de café (pulpa de café), para la obtención de un material de alta condición energética que pueda ser transformado y utilizado posteriormente con fines alimenticios, obtención de alcohol, etc.

Materiales y Métodos

Muestras de pulpa de café

En el presente trabajo fueron analizadas muestras de pulpa de café provenientes de una finca del Municipio Escuque del Edo. Trujillo. Se realizó un muestreo representativo, tomando granos de café en cereza de dicha finca, los cuales fueron despulpados por vía mecánica usando pequeños volúmenes de agua. La pulpa obtenida se sometió a secado antes de cumplirse 4 horas del despulpe en una estufa con flujo continuo de aire a 60°C por 48 horas hasta humedad aproximada del 12%.

El volumen de muestras correspondió aproximadamente a 1 kg de pulpa. Las muestras fueron trasladadas al Laboratorio del Instituto de Investigaciones Agronómicas, donde una vez pasada la pulpa por un tamiz N° 18 (U.S.A. Standard Testing Sieve A.S. T.M.E.-11-specification), se almacenaron en bolsas plásticas de cierre hermético hasta el momento de analizarlas.

Método de extracción

Se pesaron 3 g de pulpa de café tomados de las muestras almacenadas, luego se sometió a un proceso de hidrólisis, mediante ebullición a reflujo con 30 ml de ácido sulfúrico (1:10) a diferentes concentraciones, 0.5, 1, 1.5, y 2% v/v, los cuales fueron expuestos a diferentes tiempos de hidrólisis, 30, 60, 120, 180, y 240 min a temperatura constante de 100°C, todos los ensayos se realizaron por triplicado.

El hidrolizado obtenido se filtró al vacío utilizando papel de filtro cualitativo Whatman N° 1, y el material residual fue lavado en un volumen de aproximadamente 10 ml de agua destilada y posteriormente sometido a un proceso de decoloración con carbón activado, ajustando el pH a 6.0 con hidróxido de sodio, luego el precipitado fue separado por centrifugación a 500 rpm durante 5 min.

El hidrolizado, ya de color amarillo-verdoso, fue filtrado nuevamente al vacío utilizando un filtro de membrana de 0.45 µm; el volumen obtenido (40 ml aprox.) se diluyó en agua bidestilada a un volumen final de 50 ml.[6-7]; luego se pasó nuevamente por un filtro de membrana de 0.2 micras y se purificaron con cartuchos SepPak C-18 (Waters Assoc., Inc. Milford, Massachusetts). Los primeros mililitros del filtrado se eliminaron y los siguientes se colectaron para el análisis por H.P.L.C. [6-7].

Análisis H.P.L.C.

Los hidrolizados de pulpa de café se analizaron utilizando un cromatógrafo líquido de Shimadzu Corporation modelo L.C. 10AD equipado con: a) unidad desgasificadora modelo DGU-24; b) distribuidor de solvente modelo FCV-10AL, c) refractómetro diferencial modelo RID-6A, d) horno para columna modelo CTO 10A; e) inyector tipo válvula de reodine con un loop de 20 µl y un integrador computarizado modelo C- R7A[6-9].

El análisis cualitativo y cuantitativo fue realizado mediante el uso de una columna LiChrospher 100NH₂ de acero inoxidable de 4 mm IDx 250 mm de longitud en el empaque, el diámetro del poro en la fase estacionaria fue de 5 µm [8].

La separación isocrática de los azúcares se llevó a cabo a 30 grados, usando como fase móvil

una mezcla compuesta por 80% de acetonitrilo grado H.P.L.C. (Mallinckrodt), y 20% de agua bi-distilada previamente filtrada a través de un filtro de membrana de 0.20 micras y desgasificándola con una corriente de helio 99.99% de pureza. Se empleó una velocidad de flujo de 1.0 ml/min [6-7].

Cada una de las muestras fue inyectada por triplicado para verificar reproducibilidad y linealidad del análisis (Figura 1).

La caracterización y cuantificación de los carbohidratos presentes en los hidrolizados, se realizó mediante comparación entre los tiempos de retención y las áreas de los picos de las muestras y los tiempos de retención y las áreas de los picos de soluciones de 10mg/ml de patrones de xilosa, arabinosa, fructosa y glucosa, obtenidos de Sigma Chemical Company (St. Louis, Mi.). El volumen inyectado fue de 20 μ l y los resultados se expresaron en gramos de carbohidrato por kilogramo de pulpa seca [6].

Resultados y Discusión

La Figura 1 muestra un cromatograma típico de una mezcla de estándares de azúcares con sus respectivos tiempos de retención.

En la Tabla 1 se observa el rendimiento de monosacáridos (hexosas y pentosas) presentes en hidrolizados de pulpa de café, así como azúcares totales, expresados en gramos de azúcar por kilogramo de pulpa seca.

La Tabla 2 muestra el rendimiento en carbohidratos de los hidrolizados, en función de las concentraciones de ácido sulfúrico utilizadas, para un tiempo de reacción de 240 minutos.

La Tabla 3 muestra el rendimiento en carbohidratos de los hidrolizados, en función de los

tiempos de reacción, para una concentración de ácido sulfúrico de 1.5%.

Los mayores rendimientos de xilosa se observaron en hidrolizados procesados con una concentración de ácido sulfúrico al 1.5%, durante un tiempo de exposición a la hidrólisis de 60 minutos (20.31 ± 13.58 g/kg) y para una concentración de ácido sulfúrico del 2.0%, durante un tiempo de hidrólisis de 240 minutos (27.63 ± 6.04) (Tablas 2 y 3)

Los valores promedios revelan que no existe diferencia significativa para el rendimiento de xilosa, en hidrolizados sometidos a 60 y 120 minutos de reacción, esto demuestra que el rendimiento en xilosa presenta muy poca variación en función al tiempo, mientras que el efecto de la concentración del ácido muestra diferencias significativas ($P < 0.05$), ya que usando ácido sulfúrico al 2.0% se obtiene 27.63 ± 6.04 g/kg de xilosa.

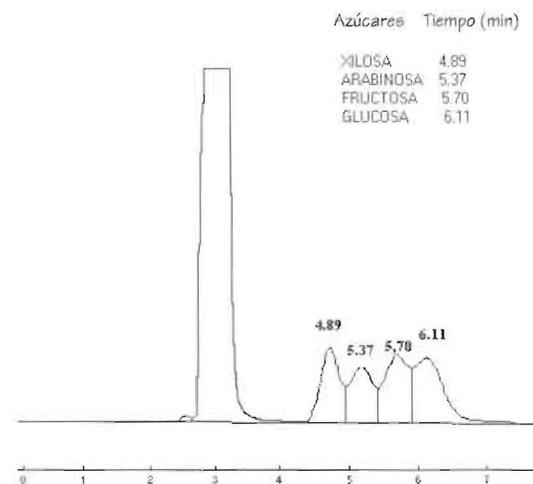


Figura 1: Cromatograma típico de una mezcla de estándares.

Tabla 1
Rendimientos de carbohidratos en hidrolizados de pulpa de café (g azúcar/kg pulpa seca)

Variable	N	Media	Desv. Estd.
Xilosa	37	15.36	± 11.10
Arabinosa	46	56.64	± 33.42
Fructosa	55	29.09	± 7.36
Glucosa	52	37.68	± 15.85
Azúcares Totales	57	128.64	± 48.69

Tabla 2
Rendimientos de carbohidratos en hidrolizados de pulpa de café para un tiempo de 240 minutos (g /kg pulpa seca) en función de la concentración de H₂SO₄

Variable	N	Media	Dev. Estd.
0.5% H₂SO₄			
Xilosa	9	6.04	± 2.02
Arabinosa	8	67.15	± 73.38
Fructosa	14	31.72	± 6.27
Glucosa	13	28.07	± 4.83
Azúcares Totales	13	113.21	± 67.15
1.0% H₂SO₄			
Xilosa	8	8.36	± 2.60
Arabinosa	13	50.43	± 6.24
Fructosa	14	31.23	± 5.95
Glucosa	13	34.99	± 6.44
Azúcares Totales	15	118.91	± 24.65
1.5% H₂SO₄			
Xilosa	10	17.06	± 12.12
Arabinosa	12	44.18	± 11.22
Fructosa	14	26.92	± 9.97
Glucosa	14	33.98	± 4.96
Azúcares Totales	15	114.00	± 26.47
2.0% H₂SO₄			
Xilosa	10	27.63	± 6.04
Arabinosa	13	67.89	± 22.05
Fructosa	13	26.28	± 5.27
Glucosa	12	55.30	± 24.31
Azúcares Totales	14	169.08	± 47.79

Esto se explica debido a que la xilosa es una pentosa que se encuentra enlazada a la hemicelulosa, la cual se hidroliza más fácil y rápidamente [8-9], de allí que necesite poco tiempo y concentraciones moderadas de ácido para que pueda obtenerse un buen rendimiento de este azúcar.

El análisis de varianza determinó, que existen diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) en un 93.8%, cuando el contenido de xilosa es comparado con la concentración de ácido y su interacción, obteniéndose un coeficiente de variación de 26.14%. El rendimiento promedio de xilo-

sa fue de 15.36 ± 11.10 g/kg de pulpa seca (Tabla 4). Esta información confirma la dependencia de la hidrólisis del carbohidrato en función de la concentración de ácido sulfúrico y el tiempo de hidrólisis. Sin embargo, se observa un coeficiente de variación un poco elevado debido a la inestabilidad que presenta esta pentosa.

La presencia de la xilosa como constituyente en la pulpa de café ha sido reportada [10-11], considerando que se debe a la existencia de polímeros de hemicelulosa que se encuentran en el complejo celulósico.

Tabla 3
Rendimientos de carbohidratos en hidrolizados de pulpa de café, usando 1.5% de ácido sulfúrico (g /kg pulpa seca), en función del tiempo de hidrólisis

Variable	N	Media	Dev. Estd.
30 minutos			
Xilosa	9	12.63	± 9.20
Arabinosa	6	38.96	± 19.33
Fructosa	9	35.53	± 7.67
Glucosa	11	29.33	± 4.31
Azúcares Totales	12	104.09	± 33.34
60 minutos			
Xilosa	8	20.31	± 13.58
Arabinosa	9	58.45	± 9.82
Fructosa	12	33.95	± 6.41
Glucosa	12	37.37	± 6.27
Azúcares Totales	12	122.97	± 33.80
120 minutos			
Xilosa	6	19.27	± 13.07
Arabinosa	10	86.18	± 56.96
Fructosa	11	25.50	± 5.28
Glucosa	10	35.13	± 10.18
Azúcares Totales	12	154.54	± 61.16
180 minutos			
Xilosa	7	12.18	± 12.01
Arabinosa	11	43.47	± 9.77
Fructosa	12	28.50	± 4.08
Glucosa	11	41.05	± 13.92
Azúcares Totales	10	120.99	± 34.25
240 minutos			
Xilosa	7	17.06	± 6.89
Arabinosa	10	44.18	± 22.52
Fructosa	11	26.92	± 5.46
Glucosa	8	33.98	± 32.71
Azucars Totales	11	114.00	± 62.05

Por otra parte, Los valores promedios obtenidos para la arabinosa revelan que existen diferencias significativas ($P < 0.01$) en el rendimiento de este carbohidrato, obteniéndose una mayor

concentración a los 120 minutos de hidrólisis (86.18 ± 56.96 g/kg de pulpa seca).

El análisis de varianza revela que todos los efectos (tiempo, concentración de ácido e interac-