

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS
INDUSTRIALES Y DE TELECOMUNICACIÓN**

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA



Trabajo Fin de Grado

**Caracterización química y vías de
valorización de residuos del café**

**(Chemical characterization and valorization
options of coffee waste)**

Para acceder al Título de:
Graduado de Ingeniería Química

Autor: Víctor Bárcena Gato

Director: Alberto Coz Fernández

Co-director: Carlos Arce Gutiérrez

ÍNDICE

1. Economía circular y biorrefinería	1
2. Residuos de café como biomasa	3
2.1. Distribución mundial de la producción del café y su historia	3
2.2. Descripción del cafeto	5
2.3. Descripción de la cereza del café	6
2.4. Procesado del café	7
3. Caracterización y valorización	10
3.1. Materiales lignocelulósicos	10
3.2. Inhibidores	13
3.3. Aplicaciones	13
4. Planteamiento y objetivos	16
5. Materiales y métodos	16
5.1. Materiales	16
5.2. Método experimental	18
5.2.1. Molienda y tamizado	18
5.2.2. Extractivos	19
5.2.3. Humedad	21
5.2.4. Cuantificación de azúcares e inhibidores	21
5.2.4.1. Preparación de muestra	21
5.2.4.2. Patrones	23
5.2.4.3. HPLC	24
5.2.5. Análisis de la celulosa, hemicelulosa y lignina con el método de Van Soest ...	27
5.2.6. Cenizas	30
6. Resultados	30
6.1. Monosacáridos y celobiosa usando la columna CHO	30
6.2. Método de Van Soest	34
6.3. Extractivos, Cenizas y humedad	36
6.4. Monosacáridos e inhibidores con la Columna SHODEX	37
7. Conclusiones	39
8. Bibliografía	41

ÍNDICE DE FIGURAS

figura 1. Evolución demográfica de la población mundial (Un.org, 2019).....	1
figura 2 . Economía linear (Balboa C. and Domínguez Somonte, 2019)	2
figura 3. Economía circular (Balboa C. and Domínguez Somonte, 2019).....	2
figura 4. r: cultivos de café robusta, a: cultivos de café arábica, m: mezcla de arábica robusta (Prada, 2014).....	3
figura 5. En la izquierda cafeto con su fruto (Articulo.mercadolibre.com.ar, 2019), a la derecha cafeto en floración (Malongo.com, 2019).....	5
figura 6. Anatomía de la cereza del café: outer skin= piel externa, pulp= pulpa, mucilage= mucilago, parchment=pergamino, silverskin=piel de plata, bean= semilla (Zarrinbakshsh et al, 2016)	6
figura 7. Esquema del procesado del café.....	9
figura 8. Modelos de los componentes estructurales de los materiales lignocelulósicos (Rivas Siota, 2014)	10
figura 9. Estructura química de la celulosa	11
figura 10. Modelo de la estructura de la lignina de madera aserrada (Chávez-Sifontes, 2013)	12
figura 11. Posibles aplicaciones para celulosa (Mussatto, 2011).....	14
figura 12. Posibles aplicaciones para hemicelulosa (Mussatto, 2011).....	15
figura 13. Molino con el residuo de piel de plata antes de ser triturado.....	18
figura 14. Tamices con su correspondiente fracción de rechazo. El residuo es poso de café. Los tamices recuadrados son los que tienen partícula<0.4 mm	19
Figura 15. Tamizadora lista para funcionar.....	19
figura 16. Montaje de Soxhlet.....	20
figura 17. Baño a 30°C (derecha), vortex (izquierda).....	21
figura 18. Baño de silicona a 120°C con los vasos iso cerrados	22
figura 19. Valoración con Ba(OH) ₂	22
figura 20. Tubos falcon introduciéndose en la centrifugadora	23
figura 21. Vial, jeringa con filtro de teflón y tubo falcon con la muestra.....	23
figura 22. Equipo HPLC	24
figura 23. Recta de calibrado de la galactosa.....	26
figura 24. Cromatograma de los posos de café, con las señales integradas, donde se ha identificado la galactosa.....	27
figura 25. Montaje de reflujo	28
figura 26. Montaje de filtración con vacío	29
figura 27. Programa que se introduce a la mufla.....	30
figura 28. Cromatogramas con columna CHO: tres réplicas de piel de plata superpuestos.....	32
figura 29. Cromatogramas con la columna CHO: tres réplicas de posos de café.....	32
figura 30. Cromatograma con la columna CHO: Réplica 1 de posos de café	33
figura 31. Cromatograma con columna CHO: réplica 1 de piel de plata.....	33
figura 32, Cromatograma con Shodex: réplica 1 de posos de café	37
figura 33. Cromatograma con columna Shodex: Replica 1 de posos de café y 0,5 g/L de ácido acético	38
figura 34. Cromatograma con columna Shodex: Réplica 1 de posos de café y 0,5 g/L de furfural	39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tipos de café utilizados en la empresa Primos de Origen	17
Tabla 2. Concentraciones de los monosacáridos de una muestra de 0,35 g	34
Tabla 3. Resultados del método de Van Soest. DN=detergente neutro, DA=detergente ácido. 35	
Tabla 4. Fracciones características los componentes lignocelulósicos	36
Tabla 5. Fracciones de extractivos, cenizas y humedad.....	36

1. Economía circular y biorrefinería

Los grandes avances médicos e industriales han aumentado la esperanza de vida de las personas en edad reproductiva, es por ello que la población mundial está experimentando un drástico crecimiento de millones de habitantes por década como se

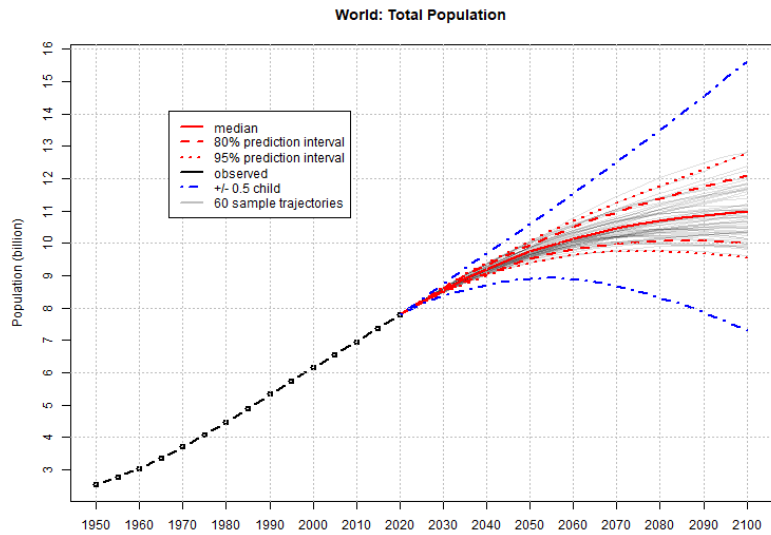


figura 1. Evolución demográfica de la población mundial (Un.org, 2019)

muestra en la figura 1. En 1950 se registró una población mundial de 2.6 miles de millones de personas, y actualmente la población mundial está cerca de los 9 miles de millones. El aumento inexorable de la población es inevitable, y aunque puede presentar cierta variabilidad, en 2050 habrá 2 miles de millones de personas más en el planeta (Un.org, 2019).

La tendencia demográfica de la población implica que se aumente la demanda de recursos naturales, pero ciertas materias primas empiezan a escasear, lo que puede incurrir en un incremento de su coste y dar lugar a crisis económicas. Adicionalmente, el aumento de la explotación de materias primas origina una presión medioambiental en el planeta, que contribuye al cambio climático, la deforestación, la contaminación y pérdida de biodiversidad entre otras problemáticas.

Actualmente muchos de los procesos productivos están basados en una economía lineal, esquematizada en la figura 2, donde el producto se fabrica a partir de una materia procedente de la naturaleza para comercializarlo y tras su uso desecharlo en forma de residuo. En la economía circular mostrada en la figura 3, por el contrario, los residuos se

intentan revalorizar para que vuelvan al proceso productivo (Balboa C. and Domínguez Somonte, 2019).

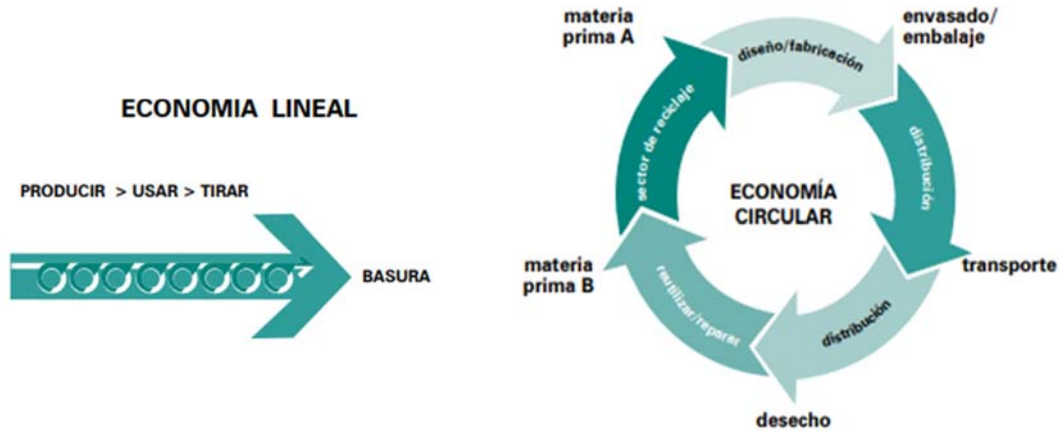


figura 2 . Economía linear (Balboa C. and Domínguez Somonte, 2019)

figura 3. Economía circular (Balboa C. and Domínguez Somonte, 2019)

Las tres mayores ventajas que implica la economía circular son las siguientes debido a sustituir las materias primas por residuos (van buren et al, 2016):

- Un país, o continente, que es capaz de implementar la economía circular se vuelve menos dependiente de la importación de materias primas por lo que reduce costes.
- Las economías circulares tienen un gran potencial para generar nuevos empleos. Esto es debido a la demanda de las reparaciones, reuso y reelaboración de productos.
- Se puede disminuir el deterioro medioambiental. Debido a la disminución de la demanda materias primas, los ecosistemas y los entornos naturales reciben menor presión medioambiental.

Un buen ejemplo de industria en la que se puede llevar a cabo una economía circular es la llamada biorrefinería, la cual produce combustibles, energía y compuestos químicos

a partir de biomasa, sobre todo residuos de biomasa. Debido su carácter renovable y disponibilidad, la biomasa es una posible alternativa a los combustibles fósiles y la petroquímica. Sin embargo, la viabilidad de una biorrefinería puede verse comprometida si la biomasa que usa es la misma fuente que un alimento. Es por ello que se han establecido tres categorías (Arteaga Pérez et al,2014):

1. Primera generación: cultivos que tradicionalmente se usan para producir alimentos como soja, caña de azúcar o maíz.
2. Segunda generación: desechos provenientes del procesamiento de los cultivos de primera generación como el bagazo, hojas de caña de azúcar o cáscaras de frutos.
3. Tercera generación: cultivos de algas para la producción de metabolitos determinados

Con el objetivo de llegar a una economía circular, la apuesta de la biorrefinería sería de segunda o tercera generación, incluyendo residuos de algas para la tercera generación.

2. Residuos de café como biomasa

2.1. Distribución mundial de la producción del café y su historia

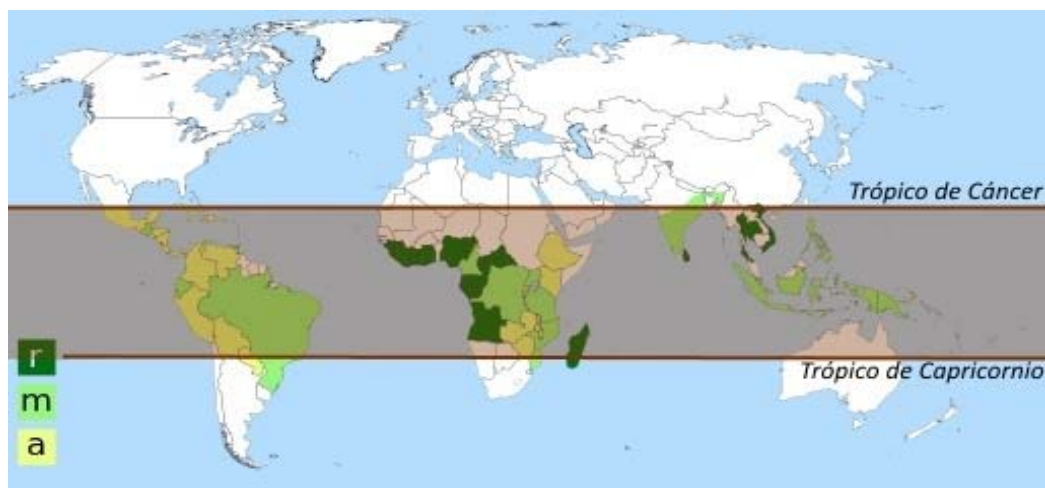


figura 4. r: cultivos de café robusta, a: cultivos de café arábica, m: mezcla de arábica robusta (Prada, 2014)

El café produjo 31,8 millones de euros en exportaciones y es el cuarto producto agrícola más comercializado. Cabe destacar de que es cuatro veces más comercializado

que el té, la segunda bebida caliente con cafeína más popular (Zarrinbakhsh et al., 2014). Más de 2,3 miles de millones de tazas de café son consumidas en el mundo cada día y la mayoría del consumo del café se da lugar en los países industrializados, mientras que el 90% del café es producido en países en desarrollo (Hughes et al, 2014).

Los tres mayores productores del mundo son Brasil, Vietnam y Colombia. Sin embargo, en 2018 la producción fue de 170.781 millones de bolsas de 60kg de café, distribuida a lo largo de países situados entre los trópicos cáncer y capricornio. Se comercializan dos especies de café, café arábica y café robusta, distribuyendo su producción en 61.15% y 38.85% respectivamente según la organización internacional del café (ico.org, 2019). En la figura 4 se representa la información en un mapa.

El café que primero comenzó a consumirse fue el café arábica, en Etiopía. Los aborígenes africanos aprovechaban sus hojas, frutos y semillas para hacer infusiones, aunque no fue hasta el siglo XV, cuando se distribuyó su cultivo por Yemen, Egipto y Arabia (Teketay, 1999). Los árabes controlaron el comercio del cultivo de café hasta el siglo XVII, y procuraron que no se exportaran granos fértiles. Sin embargo, en 1616, los holandeses consiguieron hacerse con algunas semillas, posiblemente gracias a comerciantes venecianos, y cultivarlas bajo invernadero (ico.org,2019).

Los primeros establecimientos para consumir café se abrieron en la Meca y se extendieron rápidamente por todo el mundo árabe, convirtiéndose en lugares de ocio muy concurridos (ico.org, 2019).

Los holandeses comenzaron a cultivar cafetos en Malabar, la India, y entre finales del siglo XVII y principios del XVIII lo introdujeron en Java, Sri Lanka (Ceilán) y , perteneciente a Indonesia (Rojo Jiménez and Pérez-Urria Carril, 2014). Unos cuantos años después, las colonias holandesas se convirtieron en la fuente de suministro principal de café de Europa, dando lugar a los primeros establecimientos de café en Venecia (Teketay, 1999). Actualmente, Indonesia es el cuarto exportador de café mundial (ico.org, 2019).

Respecto a Sudamérica, aunque los franceses y holandeses cultivaron los primeros cafetos en las islas en el Caribe, y posteriormente las colonias europeas propagaron el cultivo del café por sudamérica, dando lugar a que en el siglo XIX el café se consolidara

como un cultivo de gran importancia en Colombia y Brasil (Mussatto et al., 2011). En la segunda mitad de ese siglo una plaga de roya devastó los cultivos de Ceilán, entonces primer productor de café arábico del mundo. Este acontecimiento, favoreció a los países sudamericanos que cultivaban café. Debido a la roya, comenzó a finales del siglo XIX el cultivo de los cafés robustas, que presentan resistencia a esta enfermedad (cafedecolombia.com, 2019). Por último misioneros católicos expandieron en 1900 cultivos de café por Tanzania, Kenia y Uganda (Teketay, 1999)

La primera y segunda revolución industrial jugaron también un papel importante en la producción del café, contribuyendo a mejoras en su procesamiento y empaque. La industria del café desde su cultivo hasta su comercialización proporciona empleo a millones de personas en todo el mundo (ico.org, 2019).

A día de hoy el café ya no solo es una bebida, sino que su consumo está presente en la mayoría de las personas de occidente, haciendo que el producto se haya podido diversificar hasta límites insospechados. Es posible desde encontrar un café soluble de bajo coste en cualquier supermercado, hasta el café más caro del mundo, que proviene de los excrementos de un animal llamado civeta o kopi luwat (Jumhawan et al., 2016). También ha surgido en las últimas décadas la cultura cafetera o “latte”, la cual fue impulsada por Estados Unidos en 1970 y dotó de gran calidad a las bebidas (ico.org, 2019).

2.2. Descripción del cafeto



figura 5. En la izquierda cafeto con su fruto (Articulo.mercadolibre.com.ar, 2019), a la derecha cafeto en floración (Malongo.com, 2019)

El cafeto es la planta que produce los granos de café, la cual pertenece a la familia de las Rubiáceas, que abarca 500 géneros y más de 6000 especies. El género *Coffea* engloba más de 100 especies, todas oriundas de la África tropical y zonas del océano Índico como Madagascar. Comprenden desde arbustos hasta árboles leñosos que pueden llegar a alcanzar 10 metros de altura (Teketay, 1999). En la figura 5 se muestra un cafeto cargado de frutos y otro en floración.

Las especies más importantes económicamente son *Coffea Arábica* y *Coffea Canephora Robusta*, conocidas como café arábica y café robusta, respectivamente. Ambas especies requieren suelos ligeramente ácidos y climas tropicales: numerosas horas de sol, ambientes húmedos y distribución de lluvias uniforme y abundante a lo largo del año (Teketay, 1999).

El rendimiento del café robusta es mayor (2300 – 4000 kg de granos/ha) que el de café arábica (1500 – 3000 kg de granos/ha) debido a que el café robusta requiere condiciones menos exigentes: puede crecer en suelos poco profundos a latitudes bajas, soporta temperaturas mayores de 24 °C y resiste mejor las plagas, entre ellas la roya la cual ataca de forma muy severa a los cultivos de arábica. Sin embargo, el café arábica da lugar a bebidas de mayor calidad que presentan menor amargura y con un contenido de cafeína (0.8 – 1.4%) menor que el del robusta (1.7 – 4 %) (ico.org, 2019).

2.3. Descripción de la cereza del café



figura 6. Anatomía de la cereza del café: outer skin= piel externa, pulp= pulpa, mucilage= mucilago, parchment=pergamino, silverskin=piel de plata, bean= semilla (Zarrinbakshsh et al, 2016)

La cereza del café es el fruto del cafeto, y es la materia prima de donde se obtiene el lixiviado que compone las tazas de café. Cada cereza posee dos semillas las cuales están envueltas por una película plateada llamada piel de plata, que está protegida por una cáscara

llamada pergamino. Rodeando al pergamino se encuentra una sustancia azucarada llamada mucílago o “baba” debido a su textura gelatinosa. Finalmente, la parte más externa de la cereza es la pulpa y la piel (Zarrinbakshsh et al, 2016). La anatomía de la cereza se presenta en la figura 6.

2.4. Procesado del café

El procesado del café se puede hacer siguiendo diferentes métodos: vía seca o natural, vía húmeda o lavado, vía de despulpado natural o semi-seco. Ambos métodos comparten etapas de procesado similares, sin embargo, se diferencian en la obtención del café verde, el cual es la semilla de café rodeado de la piel de plata como se ve en la figura 7.

El primer paso es recolectar las cerezas de café. Se seleccionan las maduras y se elimina suciedad, ramas y hojas. Posteriormente, según la metodología con la que se trabaje, se procede de la siguiente manera:

Método por vía seca o natural (ico.org, 2019) (Duarte, Pereira and Farah, 2010) (Mussatto et al., 2011): se extienden las cerezas al sol y a medida que se secan se rastrillan o voltean manualmente para que el secado sea uniforme. El secado puede durar hasta cuatro semanas para alcanzar un contenido del 12,5% en humedad. En ciertos cafetales puede utilizarse una máquina para acelerar el proceso.

El secado es de vital importancia, puesto que la humedad puede dar lugar a la formación de hongos y si está excesivamente seco puede volverse quebradizo, se echan a perder los granos por rotura en su procesamiento posterior.

A continuación, se trillan las cerezas y se separa la semilla verde del pergamino, mucílago, pulpa y piel exterior.

Método por vía húmeda o lavado (ico.org, 2019) (Duarte, Pereira and Farah, 2010) (Mussatto et al., 2011): Se despulpa la cereza justo después de haber sido recolectada mediante una máquina que aprieta el fruto entre planchas móviles y fijas. De esta forma la pulpa y la piel quedan a un lado y los granos recubiertos de pergamino mucilaginoso (café baba), al otro. Se criba el café baba y se introduce en unos fermentadores durante

24 o 36 horas en los que el mucílago se descompone gracias a enzimas. Después de la fermentación se lava a fondo en tanques mediante agua limpia y se obtiene el café pergamino.

Posteriormente se seca al sol o en máquinas de forma cuidadosa para no estropear el café, durante 8 a 10 días hasta alcanzar una humedad del 12,5%.

Finalmente se trilla el café pergamino y se obtiene el café verde.

Método de despulpado natural o semi-seco (Duarte, Pereira and Farah, 2010): este método es un intermedio entre la vía húmeda y la seca. Tras seleccionado las cerezas adecuadas, se despulpan, pero en vez de introducir el café baba en un fermentador, se dejan secar directamente durante 8 o 10 días. Y se trilla de la misma forma que la vía seca.

Tras haber obtenido el café verde, se procede a su tueste, para dar lugar al café tostado. La temperatura óptima de tostado es única de cada variedad de café, y condiciona la calidad del mismo (Mussatto et al., 2011). Cabe destacar que ciertos fabricantes añaden en la etapa de tostado azúcar, que aumenta la producción y altera las propiedades organolépticas del café. Esta técnica da lugar al llamado café torrefacto (Cafés Macaibo, 2019).

Durante el tueste del café verde, se libera la piel de plata tostada, que en inglés se conoce como coffee chaff. Por último, el café tostado se muele y se obtiene el producto que se introduce en las cafeteras para obtener la bebida. Los restos finales son los posos de café.

Contemplando la calidad las tazas de café, el café lavado es el de más alta calidad, por presentar menos cuerpo, acidez más alta y un mayor aroma que los cafés no lavados. Por otro lado, el despulpado natural tiene un cuerpo intermedio entre los lavados y los naturales, además son altamente apreciados para hacer café expresso (Duarte, Pereira and Farah, 2010). En la figura 7 se ha elaborado un diagrama que resume el procesado del café.

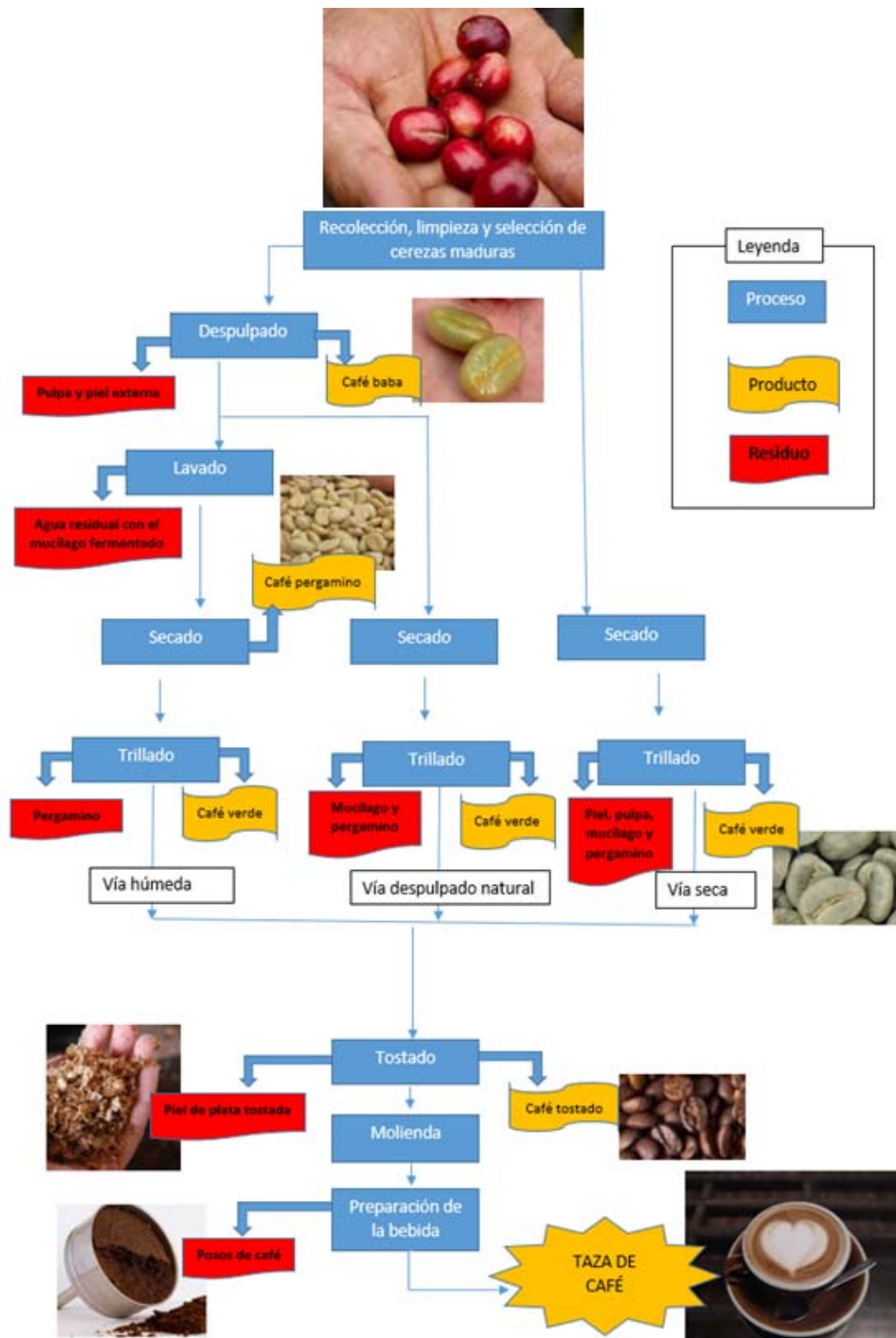


figura 7. Esquema del procesado del café

3. Caracterización y valorización

3.1. Materiales lignocelulósicos

Los residuos del café, al igual que otros residuos como los de palma o cacao, son materiales lignocelulósicos. Son una biomasa de origen vegetal y se caracterizan porque todos en su composición presenta celulosa, hemicelulosa y lignina. La celulosa posee funciones estructurales en las paredes de las células vegetales, como se ve en la figura 8. Por otro lado, la lignina tiene un carácter de adhesivo natural en la pared celular, lo que proporciona rigidez a la planta, además de ser una barrera física contra insectos y hongos entre otras funciones. Por otro lado, la hemicelulosa provee una interfase para la unión de la lignina con la celulosa como se observa en la figura 8 (Rivas Siota, 2014).

Los materiales lignocelulósicos engloban sus distintos componentes en dos grupos:

- Componentes estructurales de la pared celular: Representan entre el 80-90% de la masa del material lignocelulósico. Incluyen la celulosa, hemicelulosa y lignina.
- Componentes no estructurales: Son fracciones minoritarias dentro del material lignocelulósico. Incluyen cenizas, sustancias extraíbles, agua y otros.

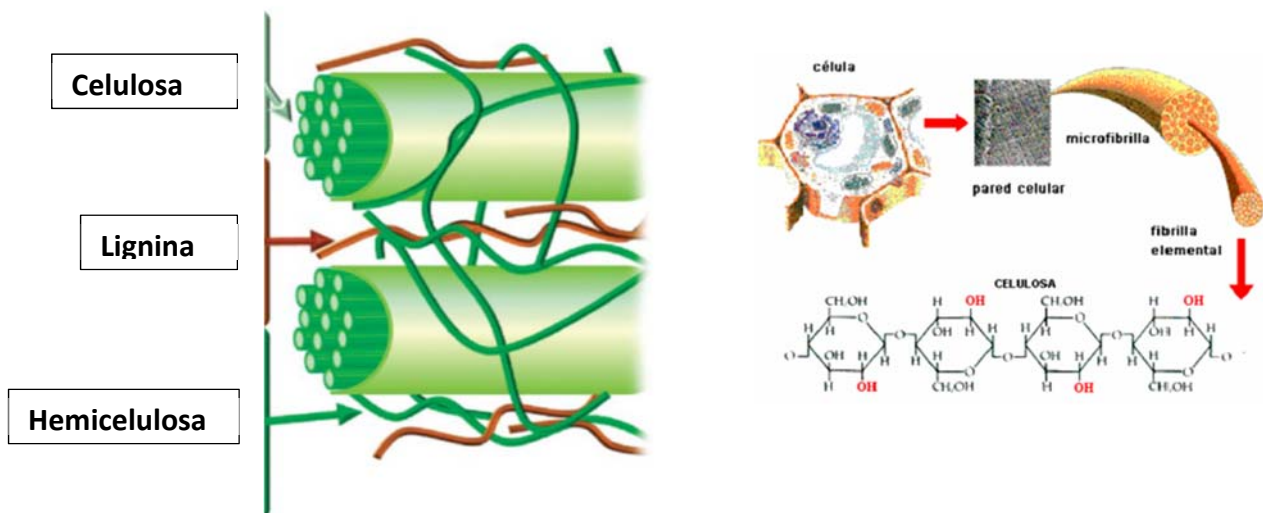


figura 8. Modelos de los componentes estructurales de los materiales lignocelulósicos (Rivas Siota, 2014)

A continuación se presentan las principales características de cada componente

Celulosa

La celulosa es un polímero conformado por glucosas como monómero, que presentan enlaces β (1 $\rightarrow$ 4). La celulosa tiene un gran grado de estabilidad y resistencia a tratamientos químicos, debido a que las cadenas lineales de celulosa forman puentes de hidrógeno con las demás cadenas adyacentes, a través de los grupos hidroxilo (Guarnizo Franco, Martínez Yépes and Valencia Sánchez, 2009) como se puede apreciar en la figura 9.

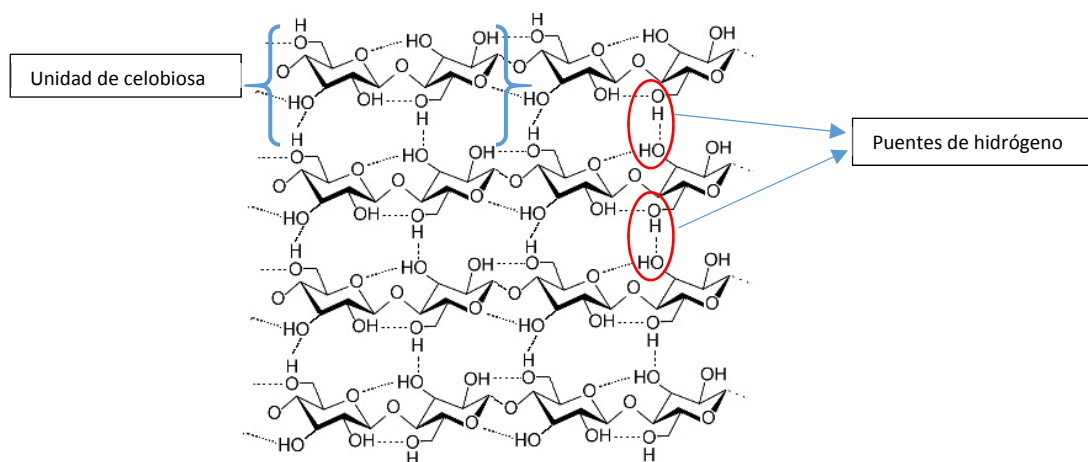


figura 9. Estructura química de la celulosa

Hemicelulosa

Es un heteropolisacárido que está compuesto por un conjunto de cadenas ramificadas y cortas de monosacáridos, que pueden ser pentosas, hexosas y ácidos urónicos. Sin embargo, los monosacáridos que están en el café según (mussatto, 2011) son:

- Hexosas, azúcares de 6 carbonos: glucosa
- Pentosas, azúcares de 5 carbonos: xilosa, arabinosa, galactosa y manosa

Lignina

Es un polímero polifenólico, amorfo y tridimensional, constituido por la copolimeración de tres monómeros denominados alcohol coniferílico, alcohol sinapílico, y alcohol p-cumarílico. En la figura 11 se muestra un modelo de la estructura de la lignina. Dicha estructura puede variar depende del método de extracción y sus unidades estructurales, es por tanto que la figura 10, es una mera propuesta de su posible estructura (El Mansouri, 2006).

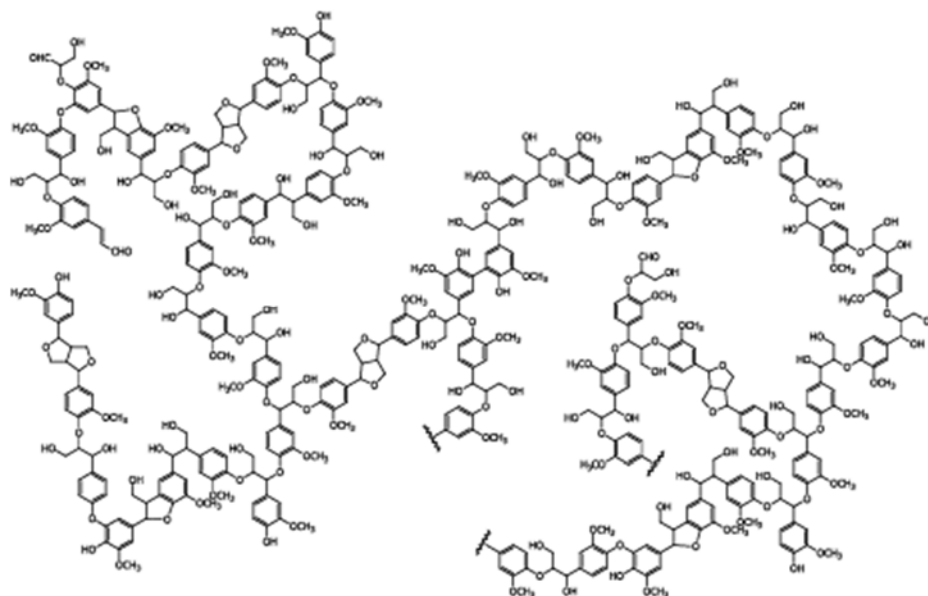


figura 10. Modelo de la estructura de la lignina de madera aserrada (Chávez-Sifontes, 2013)

Otras fracciones (Rivas Siota, 2014)

La humedad depende de las condiciones ambientales. Proviene de las propiedades higroscópicas del material lignocelulósico además de los fluidos biológicos de la planta.

Las cenizas son sustancias inorgánicas que se obtienen producto de la incineración. Principalmente abarcan carbonatos, fosfatos, oxalatos y silicatos de calcio, potasio y magnesio, así como sílice.

Los extractivos se caracterizan por ser fácilmente separables a través de un vapor o disolvente inorgánico sin necesidad de una reacción. Proviene de los fluidos biológicos de las plantas como la savia o resina. Engloba carbohidratos de bajo peso molecular, ácidos alifáticos y aromáticos, alcoholes, flavonoides, lignanos, taninos, alcaloides y ceras entre otros. Estos componentes protegen a la célula de agentes externos, además de funcionar como reserva de nutrientes. En este grupo se encuentra la cafeína, molécula de gran importancia en el café, ya que es un alcaloide.

Las proteínas se encuentran unidas covalentemente unidas a los polisacáridos y a la lignina.

3.2. Inhibidores

Cuando los residuos se valorizan, requieren de un pretratamiento previo el cual da lugar a la formación de ciertas moléculas indeseadas. Esto es debido a que el pretatramiento suele constar de una hidrólisis para separar los diferentes monosacáridos de los residuos, pudiendo darse la situación de que se rompan los mismos monosacáridos y se formen subproductos llamados inhibidores. Sin embargo, también existen inhibidores que forman parte de la composición inicial del material lignocelulósico.

Las sustancias que pueden ser tóxicas para la fermentación de bacterias son (Kovalcik, Obruca and Marova, 2018):

- Compuestos fenolíticos y alcaloides: inhiben el crecimiento de microorganismos
- Copuestos formados durante el proceso de tostado (melanoidinas): inhibe el crecimiento de microorganismos
- Compuestos formados durante la degradación de carbohidratos
 - o Ac. acético: inhibe la fermentación de microorganismos
 - o Furfural y HMF: influyen el funcionamaiento de las mitocondrias, limitando el crecimiento de ciertos microorganismos y por ende, su capacidad para producir fermentación
 - o Otro tipos ácidos como el levulínico condicionan también la fermentación para producir polihidroxialcanoatos (bioplástico)

Los extractivos pueden ser también contraproductentes en ciertas valorizaciones (Kovalcik, Obruca and Marova, 2018).

Los principales inhibidores en el caso de residuos lignoceluósicos, como son los que se centra en este trabajo son: hidroximetilfurfural (HMF), furfural, ácido acético, ácido fórmico y ácido levulínico.

3.3. Aplicaciones

En el apartado anterior se vio que la presencia de inhibidores era contraproductente para valorizar ciertas fracciones como los polisacáridos, sin embargo, estos compuestos minoritarios como son los compuestos fenólicos, melanoidinas y alcaloides, son

productos que aislados tienen un gran valor añadido con aplicaciones cosméticas (Kovalcik, Obruca and Marova, 2018).

Por otro lado el contenido en lípidos puede ser o bien aprovechado para producir biodiesel mediante transesterificación, o como sustrato para *C. necator*, que es capaz de producir polihidroxialcanoatos.

Dos de las grandes fracciones de los residuos lignocelulósicos son la celulosa y la hemicelulosa. En las figuras 11 y 12 se dan ejemplos de sus posibles valorizaciones.

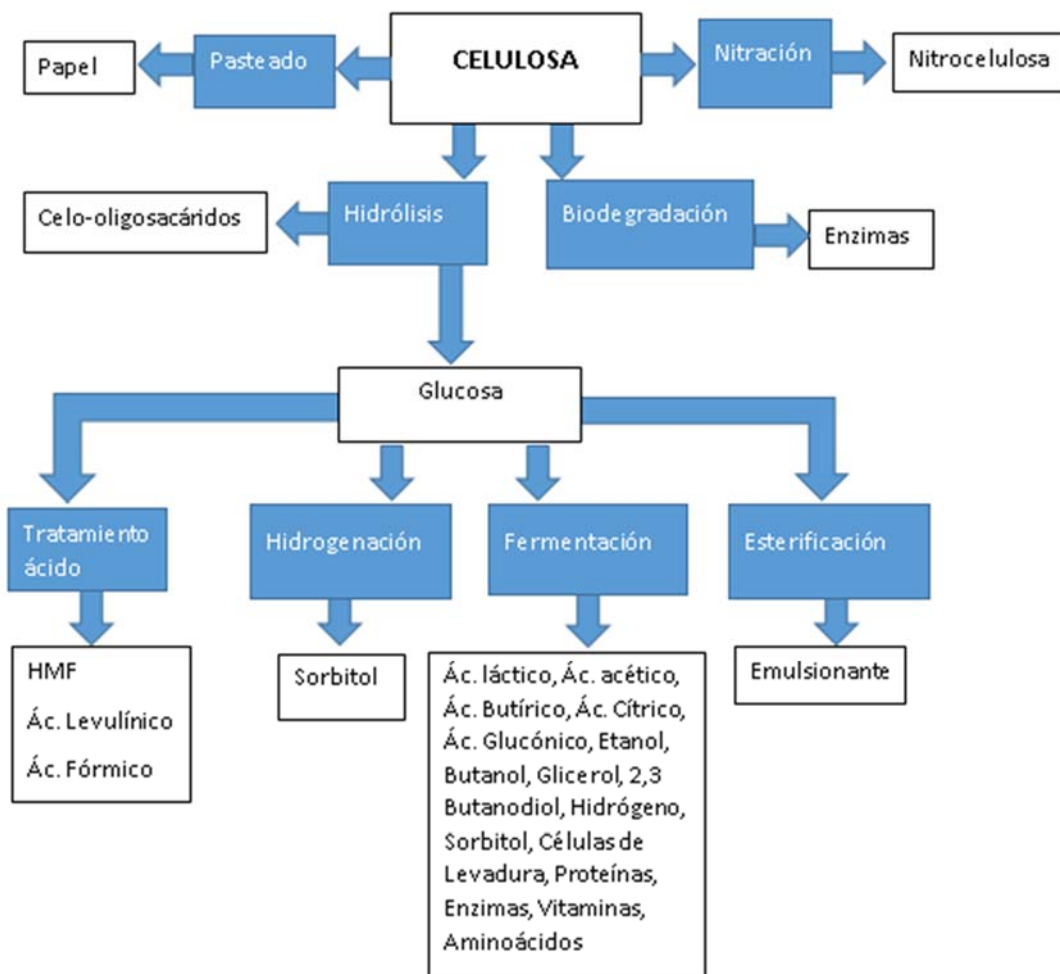


figura 11. Posibles aplicaciones para celulosa (Mussatto, 2011)

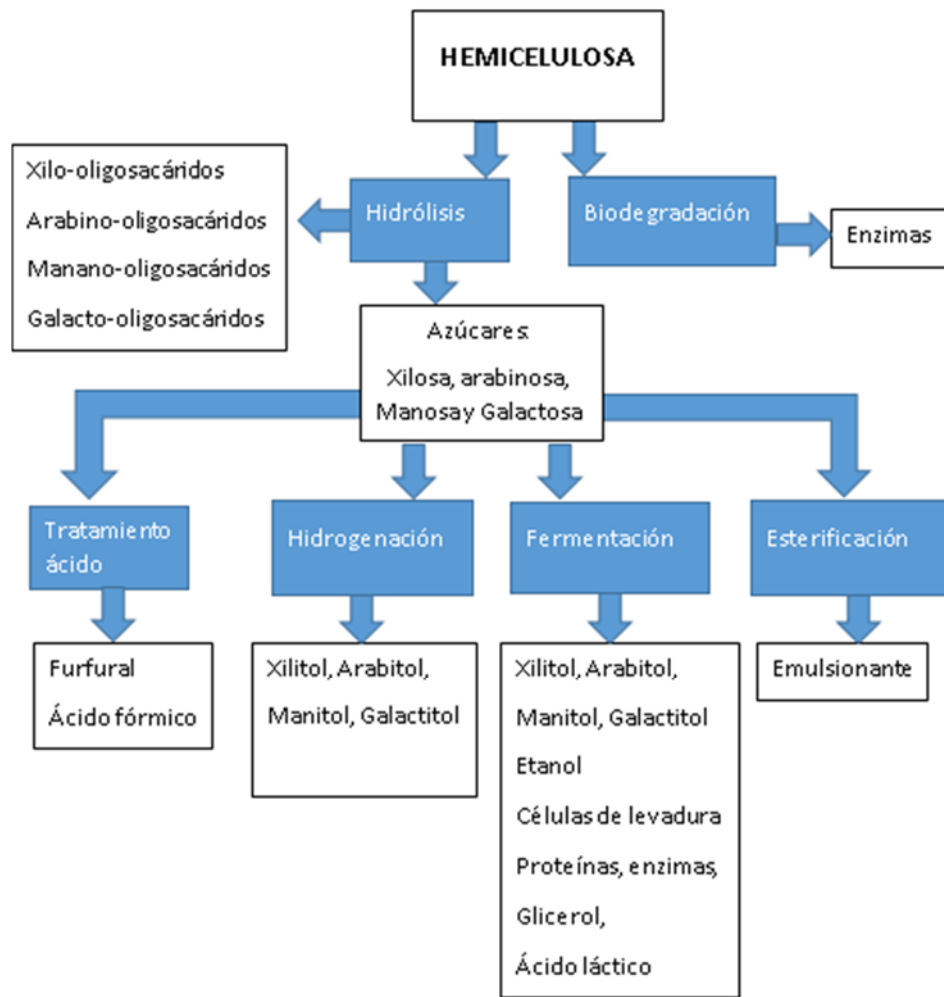


figura 12. Posibles aplicaciones para hemicelulosa (Mussatto, 2011)

Es posible obtener hidrógeno a partir de glucosa y xilosa mediante fermentación termofílica. También se puede obtener polihidroxibutirato (PHB), un homopolímero de la familia de los polihidroxialcanoatos (PHA), que puede reemplazar los actuales plásticos (Rueda et al., 2014). (Kovalcik, Obruca and Marova, 2018) establece que es posible obtener PHA a través de la fracción de lípidos también.

Otra opción de valorización es la formación de pellets ya que estos residuos poseen un alto poder calorífico. Debido a su alto contenido en polisacáridos es en convertirlo en compostaje y vermicompostaje (Janissen and Huynh, 2018).

Respecto a la lignina, no suele ser utilizada como compuesto de partida para producir otros productos por su dificultad de tratamiento y las limitaciones técnicas. Sin embargo la lignina es una fuente de compuestos aromáticos renovable, y se pronostica un auge en su uso en el futuro (Chávez-Sifontes, 2013).

Los métodos de purificación/detoxificación se pueden clasificar en varios grupos(Rueda et al., 2014):

- Métodos físicos: evaporación o separación por membrana
- Métodos químicos: adsorción con carbón activado, resinas de intercambio iónico o extracción.
- Métodos biológicos: mediante microorganismos o enzimas específicas

4. Planteamiento y objetivos

La población mundial se encuentra en un estado de crecimiento exponencial, y dado que el café es un producto altamente demandado a nivel mundial, el volumen de residuos que genera su procesado es muy elevado.

Este trabajo se enmarca en una economía circular de la industria del café para reducir su posible impacto ambiental y la valorización de sus residuos. El principal objetivo del trabajo es la búsqueda de opciones de valorización de estos residuos basada en su composición

Para ello, se plantean los siguientes sub-objetivos o etapas del trabajo:

- Estado del arte de la industria del café y sus residuos. Esta etapa se ha elaborado en la introducción.
- Selección de residuos del café para su valorización y búsqueda de métodos de caracterización química en dichos residuos con el objetivo de buscar vías de valorización.
- Análisis químico de dichos residuos.
- Vías de valorización en función de los resultados de su caracterización

5. Materiales y métodos

5.1. Materiales

Entre residuos producidos en la industria del café, se han seleccionado la piel de plata y los posos de café por las siguientes razones:

- Los residuos de café, piel de plata y posos de café, representan en torno al 50% de residuo total que produce la industria del café, por lo que suponen un

abundante suministro de residuo para valorizar. Dado que el 100% es fácilmente convertible en fertilizante o potencialmente idóneo para otras valorizaciones, y no existe una infraestructura generalizada que gestione estos residuos, urge su investigación (Janissen and Huynh, 2018).

- Cabe destacar también que el inicio de cualquier proyecto o investigación respecto a estos residuos es fácilmente escalable, porque son muy accesibles. Se producen todos los días en las cafeterías y hogares, al contrario que otros residuos del café, dado que la pulpa o las aguas de fermentado de la vía húmeda entre otros, suelen ser residuos que permanecen en los países de cultivos tropicales.

Se han seleccionado ambos residuos de la empresa Primos de Origen, en Santander. Esta empresa se dedica al tueste y procesamiento del café y utiliza diferentes variedades de café, pero en todas ellas siguiendo procesos en vías de la sostenibilidad. En la tabla 1 se puede observar la procedencia, la variedad, el proceso y la altitud del café arábica que se ha utilizado en este trabajo.

Tabla 1. Tipos de café utilizados en la empresa Primos de Origen

PROCEDENCIA	VARIEDAD	PROCESO	ALTITUD
país: Brasil Región: Poços de Caldas, Minas Gerais	Mundo Novo y Catuai	Despulpado natural y lavado	1300 m
País: Etiopía Región: Limu Kossa, Oromia	Heirloom Organico	Lavado	2000 m
País: Rwanda Región: Distrito Nyamasheke	Bourbon Rojo	Despulpado natural y lavado	1800 m
País: Brasil y Etiopía Región: Minas Gerais y Yirgacheffe	Mundo Novo, Catuai y Heirloom	Despulpado natural y lavado	1300 - 2200 m
País: Perú Región: Tarma, Cajamarca	Typica	Lavado	1700 m

Ambos residuos provienen de una mezcla de variedades y se caracterizan por ser un café de especialidad no torrefacto. Cada variedad está tostada a una temperatura diferente en función del criterio del profesional que opera con el producto.

5.2. Método experimental

Antes de realizar el análisis químico de los residuos, se llevó a cabo un estado del arte de los métodos de caracterización así como de los posibles residuos que aparecen en la figura 7. A continuación se presenta el método que se ha utilizado en este trabajo. Todos los experimentos se realizaron por triplicado, para cada residuo.

5.2.1. Molienda y tamizado

Según (Van Soest, 1967) el tamaño de partícula requerida para analizar los residuos lignocelulósicos debe ser menor a 40 mesh (0,4 mm). Debido a que el poso de café es el residuo de grano del café molido, puede tamizarse directamente. Sin embargo, el residuo piel de plata debe triturarse en un molino como el de la figura 13, para ser tamizado después.



figura 13. Molino con el residuo de piel de plata antes de ser triturado

Los tamices usados presentan una luz de malla de 2mm, 0,5mm, 0,4mm y 0,2mm. Se colocan en la tamizadora, el tiempo suficiente para que se separen las diferentes fracciones de tamaño de partícula, el cual puede ser media hora (figura 14). Finalmente se retiran los tamices de la tamizadora (figura 15) y la muestra cernida por debajo de 0.4mm se guarda para cuando se requiera.

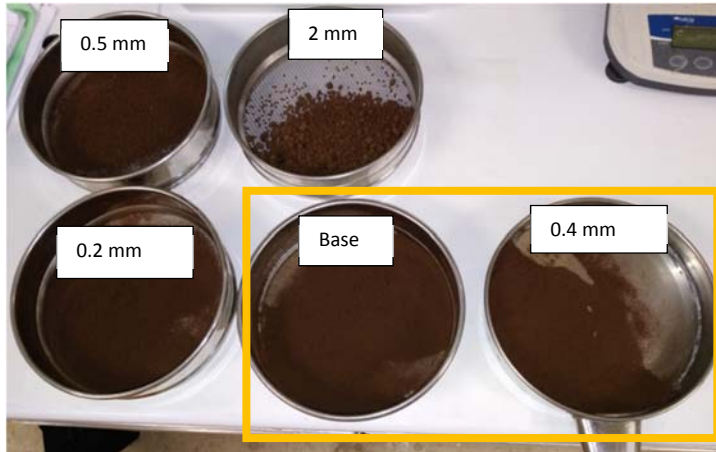


figura 14. Tamices con su correspondiente fracción de rechazo. El residuo es poso de café. Los tamices recuadrados son los que tienen partícula < 0.4 mm



Figura 15. Tamizadora lista para funcionar

5.2.2. Extractivos

Con el fin de extraer esta fracción, se toma como base la ISO 14453:1997 “Determinación de materias solubles en acetona” (ISO, 2019).

Para ello se monta el aparato extractor Soxhlet mostrado en la figura 16 que comprende:

- I. Placa calefactora
- II. Cartucho de extracción con base porosa de vidrio
- III. Aparato extractor de Soxlet:
 - A. Matraz
 - B. Extractor de Soxhlet
 - C. Condensador refrigerado por agua

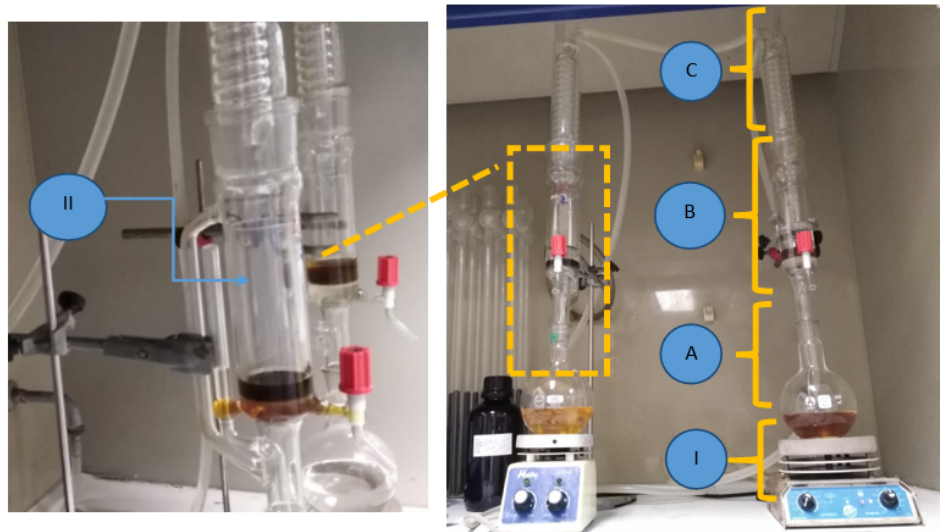


figura 16. Montaje de Soxhlet

Se pesan 5g de muestra seca que se introducen en el cartucho poroso, que a su vez estará dentro del extractor de Soxhlet como se ve en la figura 16.

Se añaden 200mL de acetona en el matraz, de forma que siempre queda un mínimo de 50mL en el momento que el extractor vaya a sifonar.

Se mantiene hirviendo el solvente para continuar la extracción hasta que el extractor se haya vaciado 16 veces como mínimo. La extracción debe de realizarse entre 3h y 4h.

Una vez terminada la extracción se ha de evaporar la acetona del matraz por el método que convenga en función de si se quiere recuperar la acetona o no.

Los resultados se expresan como porcentaje de la masa de muestra seca empleando la siguiente expresión:

$$X\% = \frac{m_2}{m_1} \times 100$$

X%=Cantidad de materia soluble en acetona expresada en masa

M1= masa de la cantidad de muestra de ensayo seca

M2= masa de residuo obtenido mediante acetona

5.2.3. Humedad

La humedad se cuantifica dejando secar la muestra durante 12 horas o toda la noche en la estufa a 105°C, y por diferencia de pesada se obtiene el porcentaje de humedad.

5.2.4. Cuantificación de azúcares e inhibidores

En la búsqueda bibliográfica que se ha hecho, además de encontrar posibles vías de valorización para las tres fracciones principales (celulosa, hemicelulosa y lignina), gran parte de las vías de valorización dependen del tipo de azúcares y otros compuestos en dichas fracciones por lo que se ha añadido un método de hidrólisis y su posterior cuantificación por cromatografía para poder analizar dichos compuestos.

5.2.4.1. Preparación de muestra

Hidrólisis

Se pesan 0,35g de muestra seca en un tubo de ensayo y se añaden 3mL de H₂SO₄ 72%. A continuación, se sumergen parcialmente en un baño a 30°C durante 1h y se deben agitar cada 5 minutos con un vórtex (figura 17)



figura 17. Baño a 30°C (derecha), vortex (izquierda)

A continuación diluir la muestra con 84mL de agua ultrapura en un frasco ISO, el cual debe de mantenerse en un baño de silicona a 120°C durante una hora (figura 18). Agitar cada 10 min manualmente.



figura 18. Baño de silicona a 120°C con los vasos iso cerrados

Valoración

Después de haber transcurrido una hora, los frascos ISO deben de ser enfriados. Se extrae una alícuota de 10 mL a la que se le añade 1mL de azul de bromofenol. A la disolución se le vierte progresivamente $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 0,4N hasta que la disolución se torna amarillo violáceo o se alcanza un pH en torno a 4,4 (figura 19). Hay que tener especial cuidado en valorar porque si la disolución se vuelve alcalina puede ocurrir que la hidrólisis se revierta.



figura 19. Valoración con $\text{Ba}(\text{OH})_2$

Centrifugado

Se traspasa a tubos falcon y se centrifuga como se muestra en la figura 20.



figura 20. Tubos falcon introduciéndose en la centrifugadora

Preparación de viales

Tras finalizar el centrifugado se filtra el sobrenadante rico en azúcares mediante un filtro de teflón 0.45 μ m y se rellenan los viales (figura 21) que se introducirán al HPLC (high performance liquid chromatography).



figura 21. Vial, jeringa con filtro de teflón y tubo falcon con la muestra

5.2.4.2. Patrones

También se preparan patrones de concentraciones 5g/L, 2,5g/L, 1g/L, 0,7g/L, 0,5g/L, 0,25g/L y 0,1g/L de monosacáridos: glucosa, manosa, arabinosa, xilosa y galactosa y de inhibidores: HMF, furfural, ac. Levulínico, ac.acético y ac. Fórmico. Cada patrón deberá también de introducirse en un vial con un filtro de teflón 0,45 μ m.

5.2.4.3. HPLC

High performance liquid chromatography o cromatografía líquida de alta eficacia, se utiliza para identificar los monosacáridos y posibles inhibidores.

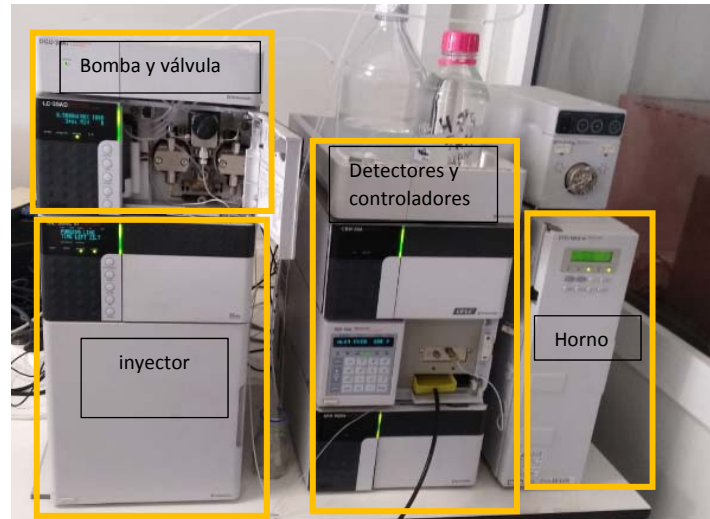


figura 22. Equipo HPLC

En la figura 22, se puede ver el equipo de HPLC y sus diferentes componentes.

Se enciende el equipo, se prepara y se escoge la columna necesaria.

Se pueden utilizar dos columnas, que irán situadas dentro del horno:

- SH-1011 → Mide HMF, furfural, ácidos y azúcares.
Fase móvil: ácido sulfúrico 5μM
Caudal: 0,6mL/min
Volumen de inyección: 20 μL
Tª: 70°C
Dimensión: 300 mm × 8 mm, Tamaño de partícula: 6 μm (Llano et al., 2017)
- CHO-99-7770 → Mide azúcares.
Fase móvil: Agua ultrapura
Caudal: 0,5mL/min
Volumen de inyección: 20μL

T^a : 70°C

Dimensión: 300 mm × 7,8 mm, tamaño de partícula: 7 μ m (Llano et al., 2017)

Cuando se instala una columna nueva, se deben de analizar con el HPLC todas las muestras y patrones que se quieran analizar de nuevo, es decir, no se pueden utilizar las rectas de calibrado de la columna SH-1011 para analizar los cromatogramas que resultan de operar con la columna CHO-99-7770.

La muestra inicial que se quería medir tenía estaba compuesta de: 0,35g de masa seca sin extractivos, y 3 mL de ac. Sulfúrico y 84 mL de agua ultrapura. En total sería un volumen de 87 mL, sin embargo, después de la hidrólisis se vuelve a medir el volumen porque puede reducirse al final del proceso (VF). De esta última disolución se toma una alícuota de 10 mL para neutralizar mediante Ba(OH)₂ con ayuda de 1 mL de indicador de azul de bromofenol. El cromatograma muestra la concentración de la disolución con todos los volúmenes añadidos.

Definiciones

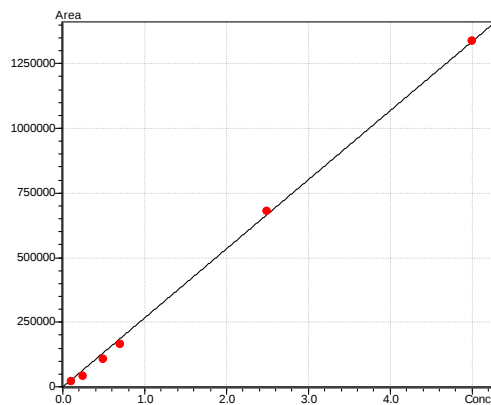
Cromatografía: Técnica de laboratorio donde separa una mezcla de sustancias. En el caso del HPLC, la mezcla se disuelve en una fase fluida líquida, llamada fase móvil la cual la transporta a través de una fase estacionaria. Las diferentes sustancias de la mezcla interaccionan con la fase estacionaria y ocasiona que se desplacen a diferentes velocidades, dando lugar a su separación.

Tiempo de retención: tiempo que requiere una sustancia para ser eluida de la columna, es decir, desde que se inyecta hasta que alcanza el detector.

*Si en la muestra existen dos sustancias que tienen tiempos de retención similares, puede darse que coeluyan y no se distingan de forma diferenciada en el cromatograma. En función de los resultados se pueden establecer condiciones del equipo distintas para separar los picos o al menos ver un hombro más claramente. La disminución de caudal y el aumento de temperatura pueden contribuir a la separación de los picos que coeluyen.

Cromatograma: gráfico en donde se representan las señales o picos cromatográficos, con sus respectivos tiempos de retención, producidas en la cromatografía. El número de picos cromatográficos es el número de sustancias identificadas en la muestra.

Método de estandarización interna: los patrones elaborados previamente, se analizan con el HPLC. Se identifica tanto el área de señal de cada patrón como su tiempo de retención y se crean rectas de calibrado como se muestra en la figura 23. Posteriormente cuando se introducen las muestras, se puede identificar el tipo de sustancia y su concentración analizando sus picos cromatográficos (figura 24).



$$Y = aX + b$$

$$a = 267120.1$$

$$b = 0.0$$

$$R^2 = 0.9995753$$

$$R = 0.9997876$$

figura 23. Recta de calibrado de la galactosa

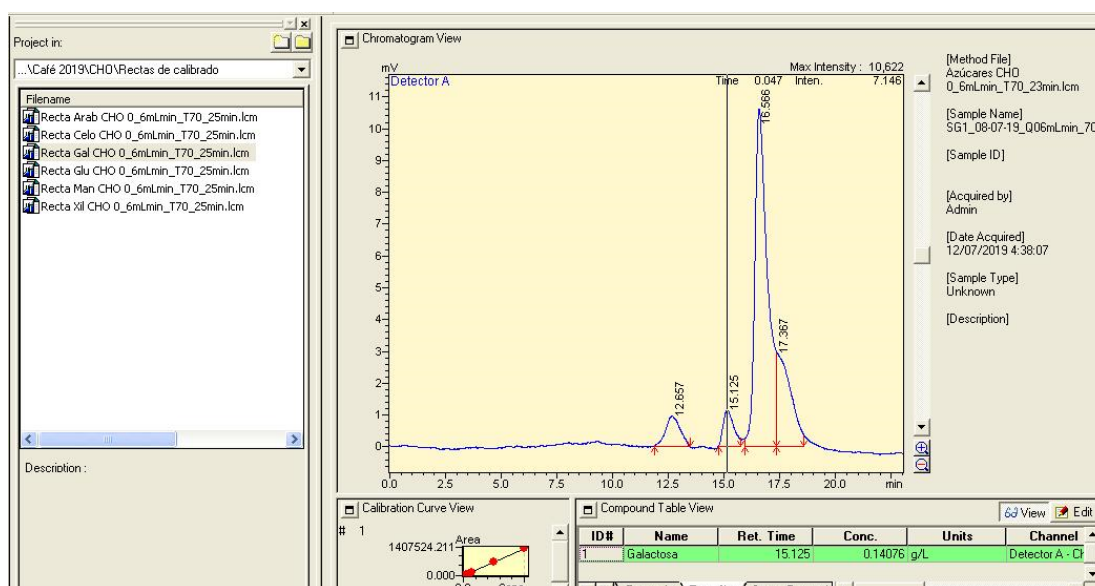


figura 24. Cromatograma de los posos de café, con las señales integradas, donde se ha identificado la galactosa.

5.2.5. Análisis de la celulosa, hemicelulosa y lignina con el método de Van Soest

El residuo tras haber pasado la molienda, el tamizado, y estar libre de extractivos, se pesa 1g y se introduce en un sistema de reflujo con 100 mL de detergente neutro durante 60 minutos como muestra la figura 25.

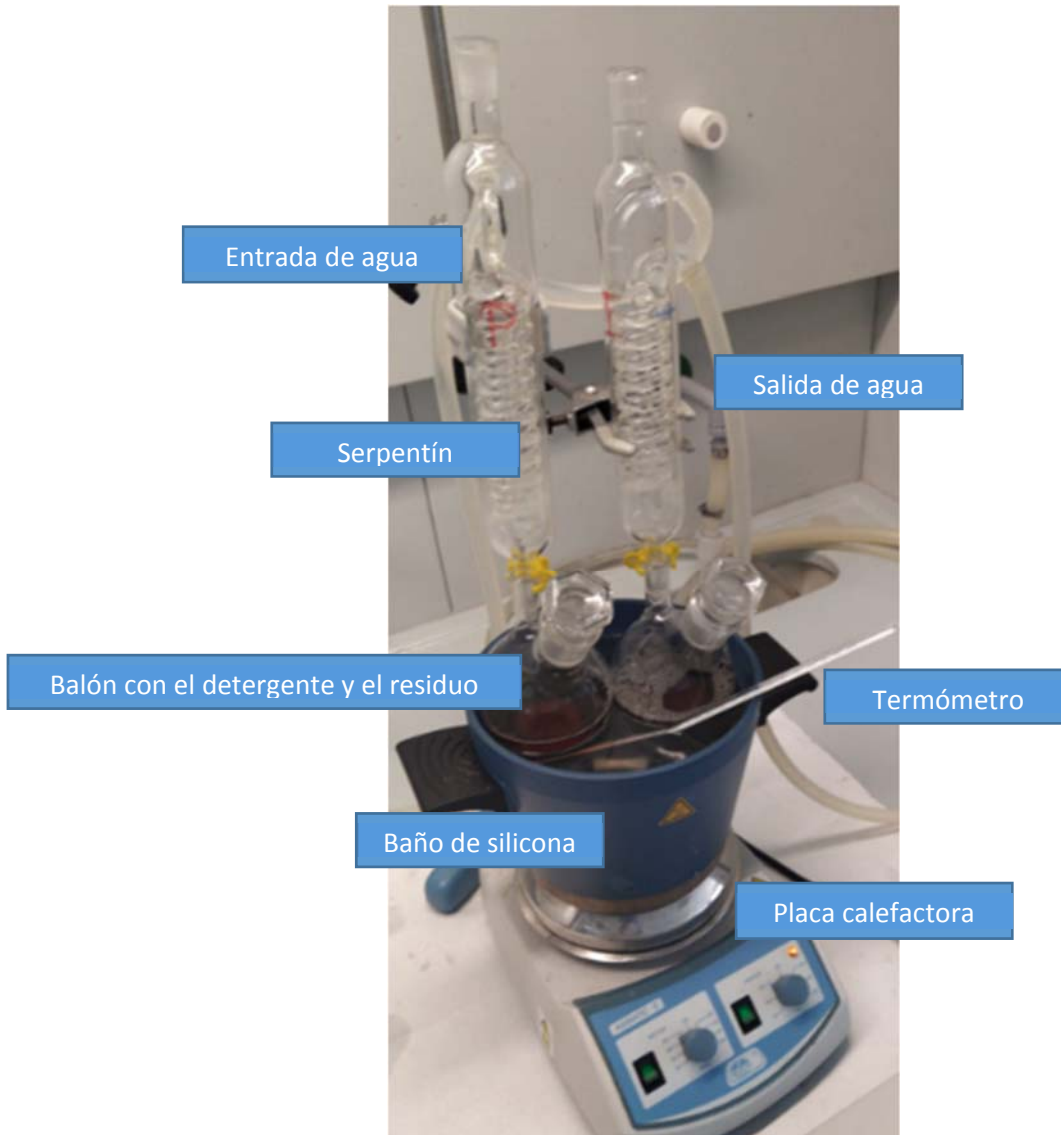


figura 25. Montaje de reflujo

Se pesa un papel de filtro con la balanza, y posteriormente se introduce en un embudo büchner que se conecta a un sistema de filtración por vacío. El sistema de vacío se puede ver en la figura 26, está compuesto por dos kitsatos (uno de ellos actúa como trampa), tubos de goma, y una bomba a vacío. El equipo de filtrado posee una conexión en forma de “T” la cual posee un orificio, que puede ser usado para romper el vacío cuando convenga. Una vez filtrado todo el detergente neutro, se debe romper el vacío y lavar en el residuo retenido en el filtro con agua caliente a 80-90°C. A continuación, repetir el lavado dos veces, pero con acetona. Una vez terminados todos los lavados se debe secar en la estufa durante 8 horas. Finalmente, se enfría en el desecador y se pesa.

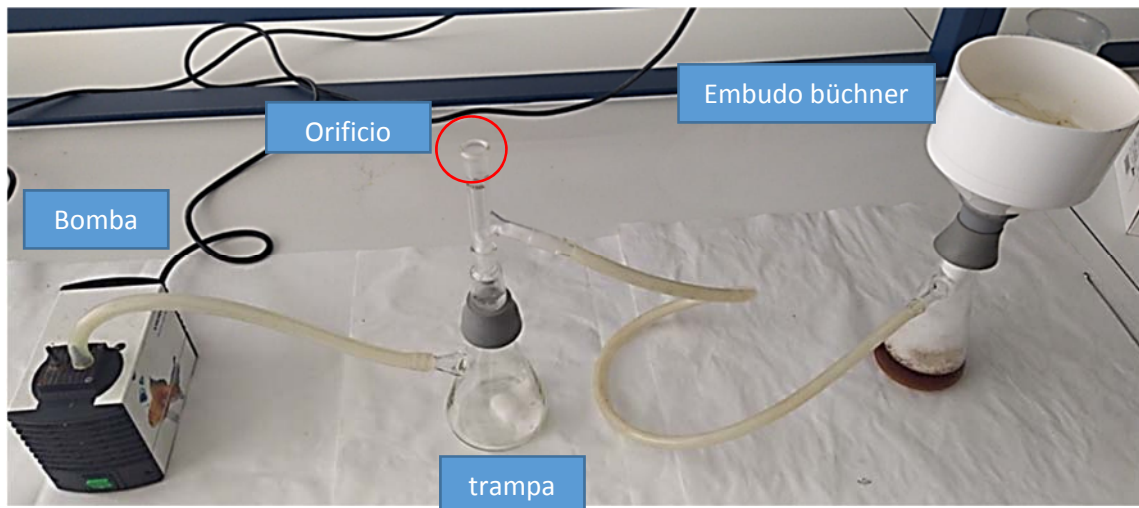


figura 26. Montaje de filtración con vacío

El detergente arrastra las sustancias celulares solubles como grasa, cera, pectina, proteínas y polisacáridos. El residuo que queda en el filtro contiene: celulosa, hemicelulosa, lignina, y minerales (Viel, Collet and Lanos, 2018).

En el siguiente paso se procede de la misma manera que con el detergente neutro, pero usando el detergente ácido. En este caso el detergente arrastra la celulosa y el residuo que queda en el filtro contiene: celulosa, lignina y minerales (Viel, Collet and Lanos, 2018).

A continuación, el residuo se mezcla con una disolución de ácido sulfúrico al 72% durante 3h a 20°C como se indica en (Van Soest and McQueen, 1973). El ácido elimina la celulosa y la fracción resultante es lignina, cutina y sustancias recalcitrantes (Viel, Collet and Lanos, 2018). También se debe filtrar de igual manera que los detergentes, pero previamente se ha de diluir para evitar que el ácido queme el filtro.

Finalmente, sometiendo al residuo a 550°C durante 3 horas se obtiene el contenido en cenizas (Viel, Collet and Lanos, 2018).

Mediante diferencia de pesada de las distintas fracciones, se calcula el contenido de hemicelulosa, celulosa, lignina insoluble y cenizas.

5.2.6. Cenizas

Se preparan 3 muestras de masa seca de 1 gramo de cada residuo, y se introducen en crisoles. Se colocan en una mufla cubiertos con una tapa. Se deben de calcinar las muestras a 525°C durante 3 horas, pero para que carbonice sin llama, se somete a una sucesión de rampas descritas en la figura 30:

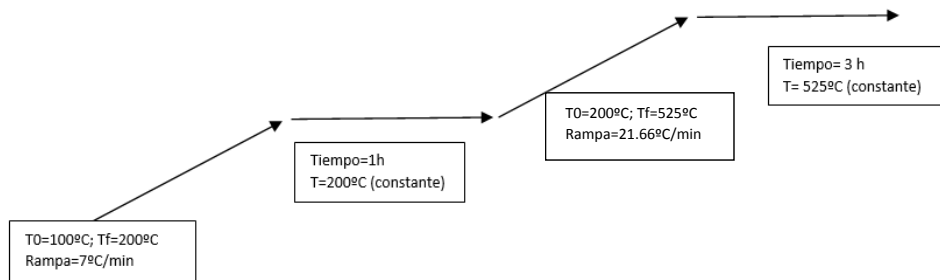


figura 27. Programa que se introduce a la mufla

Una vez acabado el programa de la mufla se extraen los crisoles, se dejan enfriar brevemente en un ladrillo a temperatura ambiente, después en el desecador. Cuando los crisoles hayan enfriado, se pesan y se calcula por diferencia de pesada el porcentaje de cenizas. En esta operación se eliminan la lignina y el residuo remanente es las cenizas.

6. Resultados

6.1. Monosacáridos y celobiosa usando la columna CHO

El área bajo la curva de los picos cromatográficos, relacionándolos con las curvas de calibrado, indica la concentración de la muestra. Es por ello que cada pico cromatográfico corresponde a una concentración de un monosacárido como se ve en la figura 28 y 29.

La muestra inicial que se quería medir estaba compuesta de: 0.35g de masa seca sin extractivos, 3 mL de ac. Sulfúrico y 84 mL de agua ultrapura (c(g/L)inical). En total la muestra estaría contenida en un volumen llamado volumen final (VF). De esta última

disolución se toma una alícuota de 10 mL para neutralizar mediante $\text{Ba}(\text{OH})_2$ con ayuda de 1 mL de indicador de azul de bromofenol (V de indicador). El área de cada pico en el cromatograma, muestra la concentración de la disolución con todos los volúmenes añadidos, y para saber la concentración inicial que se tenía se realizan los siguientes cálculos:

$$C \left(\frac{g}{L} \right)_{\text{inicial}} = C \left(\frac{g}{L} \right)_{\text{HPLC}} * \text{factor de dilución (ec.1)}$$

$$C \left(\frac{g}{L} \right)_{\text{inicial}} = C \left(\frac{g}{L} \right)_{\text{HPLC}} * \frac{v\text{Ba}(\text{OH})_2(\text{mL}) + v \text{ de indicador}(\text{mL}) + 10\text{mL}}{10\text{mL}} \text{(ec.2)}$$

En la figura 28 y 29 se observa que, aunque la arabinosa y la manosa coeluyen en un mismo pico cromatográfico, se aprecia un hombro, el cual está más marcado en el poso de café. Es por ello que se puede integrar el pico en dos partes tomando de referencia dicho hombro, y así obtener la concentración de manosa y arabinosa por separado. En la figura 30 y 31 se muestran donde están situados los hombros y cómo se integraron los picos.

Otro hecho observable en las figuras 28 y 29 es que las tres réplicas de los dos residuos son prácticamente idénticas, lo que confirma que las hidrólisis han sido bien realizadas. Sin embargo, en la figura 29, la réplica 3 es menor porque no se utilizó 0,35 g de muestra, sino 0,23 g.

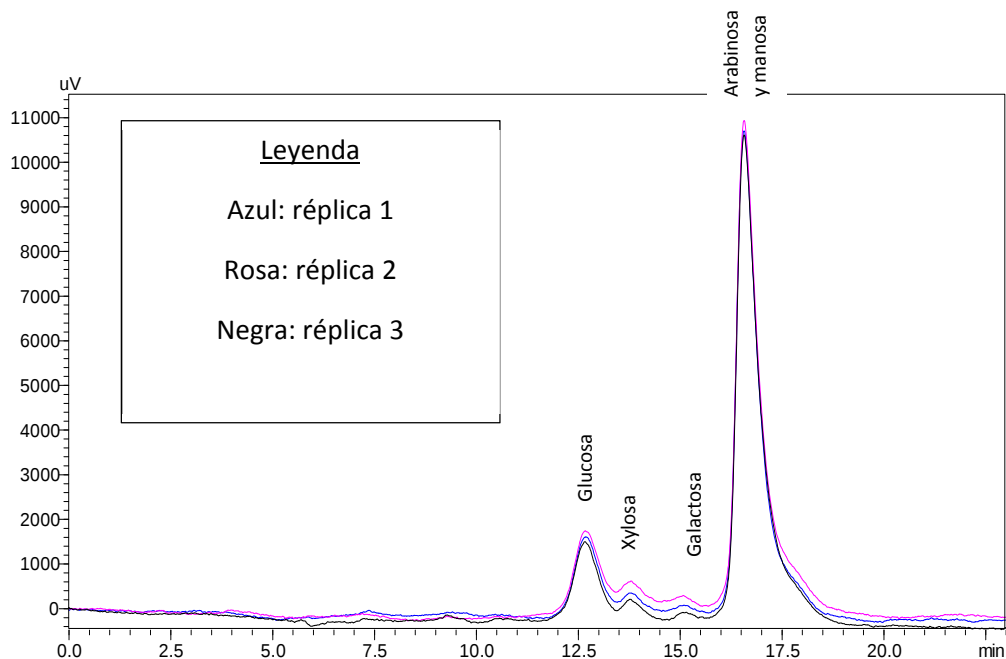


figura 28. Cromatogramas con columna CHO: tres réplicas de piel de plata superpuestos

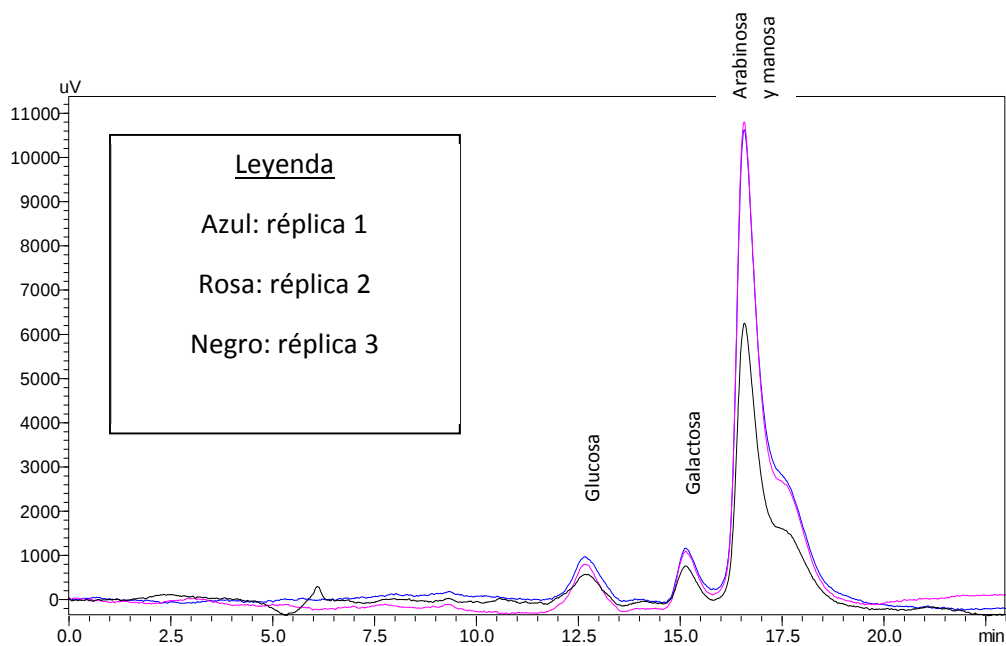


figura 29. Cromatogramas con la columna CHO: tres réplicas de posos de café

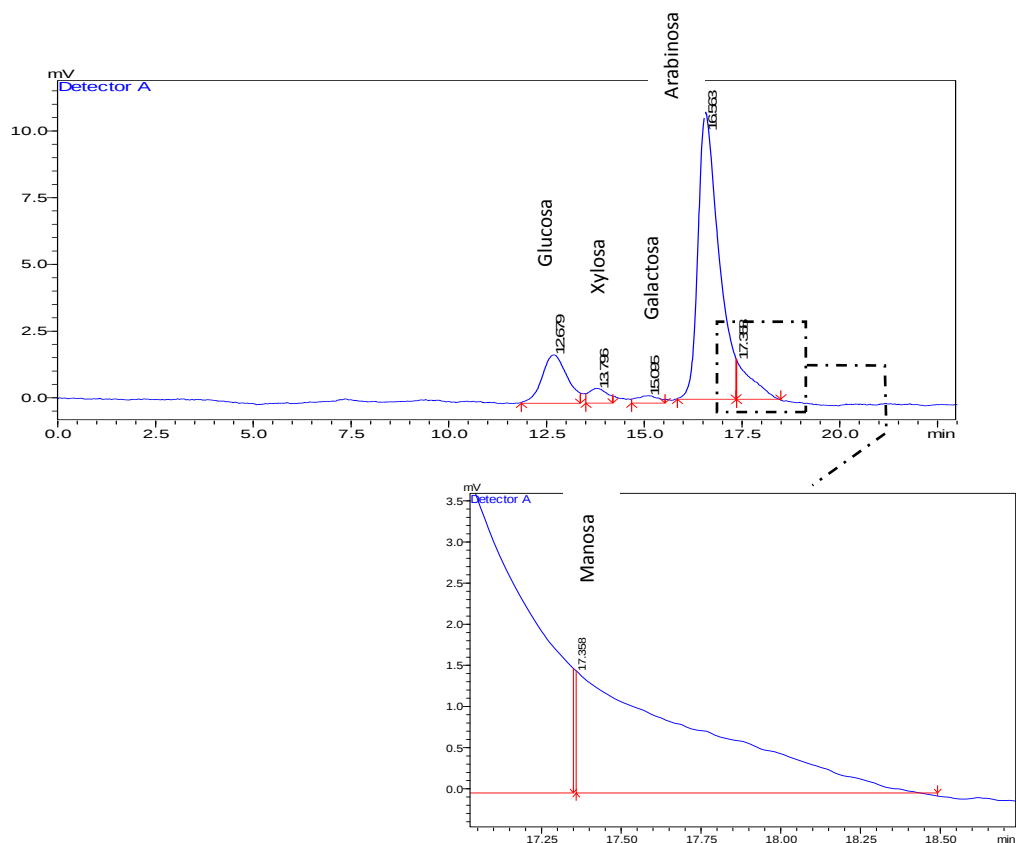


figura 30. Cromatograma con la columna CHO: Réplica 1 de posos de café

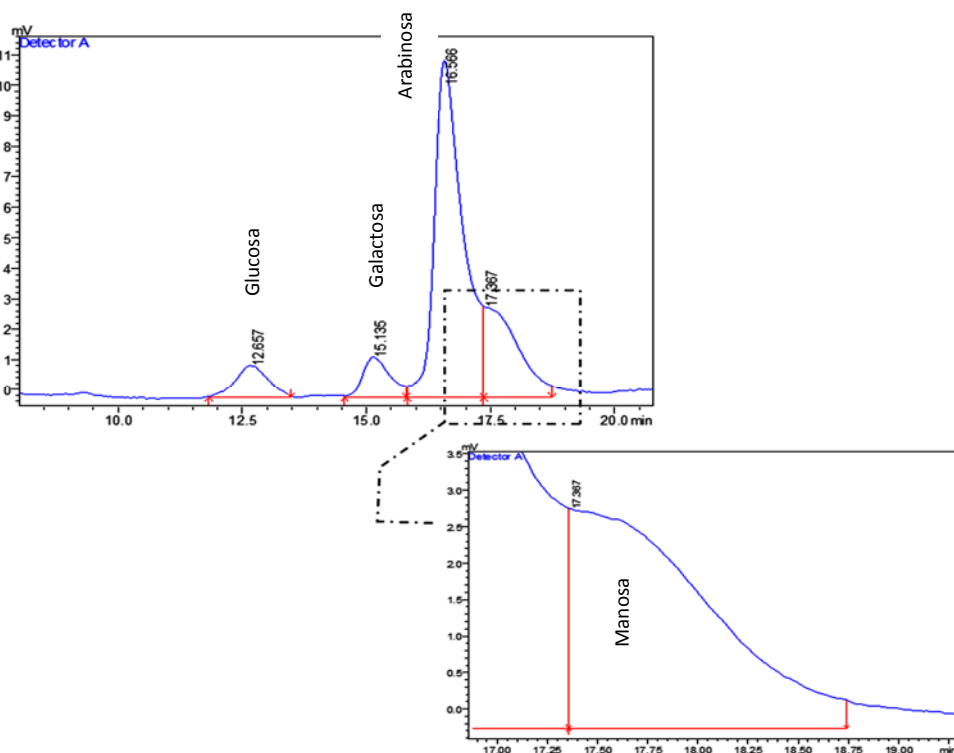


figura 31. Cromatograma con columna CHO: réplica 1 de piel de plata

Tras realizar las operaciones pertinentes mostradas, se obtienen las concentraciones del volumen inicial (ec.2). Para la obtención de un dato que facilite la comparación de concentraciones. Los resultados figuran en la tabla 2.

Tabla 2. Concentraciones de los monosacáridos de una muestra de 0,35 g

g/L (V=87mL)	Piel de plata (g/L)		Poso de café (g/L)	
Celobiosa	n.d.		n.d.	
Glucosa	0,6	±0,04	0,4	±0,099
Xilosa	0,24	±0,1	n.d.	
Galactosa	0,12	±0,06	0,59	±0,13
Arabinosa	3,65	±0,15	3,83	±0,15
Manosa	0,48	±0,11	1,82	±0,22

El HPLC no detectó moléculas de celobiosa y la xilosa solo se ha encontrado en los residuos de piel de plata, lo cual coincide con las mediciones de (Ballesteros et al, 2014), ya que tampoco detectó xilosa en los posos de café.

En los artículos de (Obruca et al., 2014), (Burniol-Figols et al., 2016) y (Mussatto et al., 2011) se obtuvieron como monosacárido mayoritario la manosa en los posos de café. Sin embargo, en nuestro análisis, aunque se ha obtenido un porcentaje alto de manosa, la arabinosa es mayor. Esto puede explicarse debido a:

- El origen del residuo, las condiciones de cultivo y el empleo de diferentes variedades de café, crea una variabilidad en las muestras de una investigación a otra. El procesado del café, el método para obtener la semilla verde o la temperatura de tostado, influyen en la composición del residuo. Por ello, es posible que la muestra simplemente tenga una composición distinta.
- La hidrólisis ácida mediante ácido sulfúrico favorece la liberación de arabinosa como afirma (verhagen, 2018).
- Como se ve en la figura 30 y 31, el pico de manosa y arabinosa coeluyen, porque tienen tiempos de retención muy parecidos. Esto da lugar a que en un mismo pico se vean reflejados los dos monosacáridos, y que condicione el resultado.

6.2. Método de Van Soest

En la tabla 3, se muestran las fracciones que los detergentes y el sulfúrico no consiguen extraer, es decir, el residuo que se deposita en el filtro de papel resma.

Tabla 3. Resultados del método de Van Soest. DN=detergente neutro, DA=detergente ácido

%	Piel de plata				Posos de café			
	Sin extractivos		Con extractivos		Sin extractivos		Con extractivos	
Residuo no disuelto en DN (RDN)	71,55	±4,22	65,67	±5,93	89,34	±1,08	76,02	±2,86
Residuo no disuelto en DA (RDA)	66,87	±4,57	61,20	±3,31	48,22	±1,23	56,91	±5,25
Residuo no disuelto en H₂SO₄ 72%	63,84	±3,08	48,52	±1,21	54,36	±4,77	39,82	±3,74

La primera diferencia que se puede destacar entre los análisis con y sin extractivos, es que el RDN es mayor en las muestras sin extractivos (tabla 3). Esto es causado porque el detergente neutro se encarga de extraer sustancias solubles presentes en las células (proteínas y lignina soluble, entre otros) y el método de Soxhlet, utilizado para eliminar los extractivos, además de grasa también arrastra sustancias solubles de igual modo que hace el detergente neutro. Por consiguiente, cuando el detergente neutro se aplica a una muestra sin extractivos, reduce menos el peso de la muestra inicial porque parte de las sustancias solubles ya habían sido eliminadas previamente.

Según el artículo (Pigden, Balch and Graham, 1980), un contenido de grasa mayor de un 10% interfiere con los análisis de Van Soest, es por ello que se han analizado los residuos tanto con extractivos como sin extractivos. Como se explicó en el punto 3.1., entre los componentes de los extractivos se encuentran las grasas, por lo que el residuo con más lípidos será el que tenga un contenido de extractivos mayor. (Zarrinbakhsh et al., 2016) y (Janissen and Huynh, 2018) coinciden en que los posos de café tienen un mayor de contenido de grasa, lo que explica dos hechos en los resultados obtenidos:

- El mayor contenido de extractivos en posos de café (tabla 5)

- La gran diferencia en los posos de café, de las fracciones de la celulosa y hemicelulosa, entre los resultados de Van Soest con extractivos y sin ellos (tabla 4).

Tabla 4. Fracciones características los componentes lignocelulósicos

%	Piel de plata		Poso de café	
	con extractivos	sin extractivos	con extractivos	sin extractivos
Celulosa	26,70	33,73	22,24	14,95
Hemicelulosa	4,47	4,68	12,10	41,12
Lignina	34,50	33,13	34,68	33,28

Según el método de Van Soest (tabla 4), se observa que hay un contenido más alto de celulosa en la piel de plata que en los posos de café, por ello es esperable que también su contenido en glucosa sea más alto, y en efecto, el HPLC lo confirma (tabla 2).

6.3. Extractivos, Cenizas y humedad

Tabla 5. Fracciones de extractivos, cenizas y humedad

%	Piel de plata		Poso de café	
	con extractivos	sin extractivos	con extractivos	sin extractivos
Extractivos	15,83	-	22,81	-
Cenizas	6,26	±0,72	2,21	±0,11
Humedad	13,28	-	27,47	-

En la tabla 5 Se muestra el contenido de humedad, y se ve que es más bajo en la piel de plata. Principalmente se debe a que la piel de plata se obtiene después de haber tostado el grano de café, sin embargo, el poso es la sustancia remanente de una extracción con agua (método por el cual se obtiene la bebida de café), por lo que evidentemente el residuo está más húmedo que si hubiera salido de un horno como es el caso de la piel de plata.

Los residuos después de haberse mantenidos en una estufa a 105°C, se dejaron a temperatura ambiente, y la piel de plata siempre mostraba menos contenido de humedad, por lo que se puede afirmar que el poso de café es más higroscópico.

6.4. Monosacáridos e inhibidores con la Columna SHODEX

Como ha sido explicado en el punto 5.3.3. de la metodología experimental, el equipo de HPLC puede trabajar con diferentes columnas en función de la fase fluida requerida.

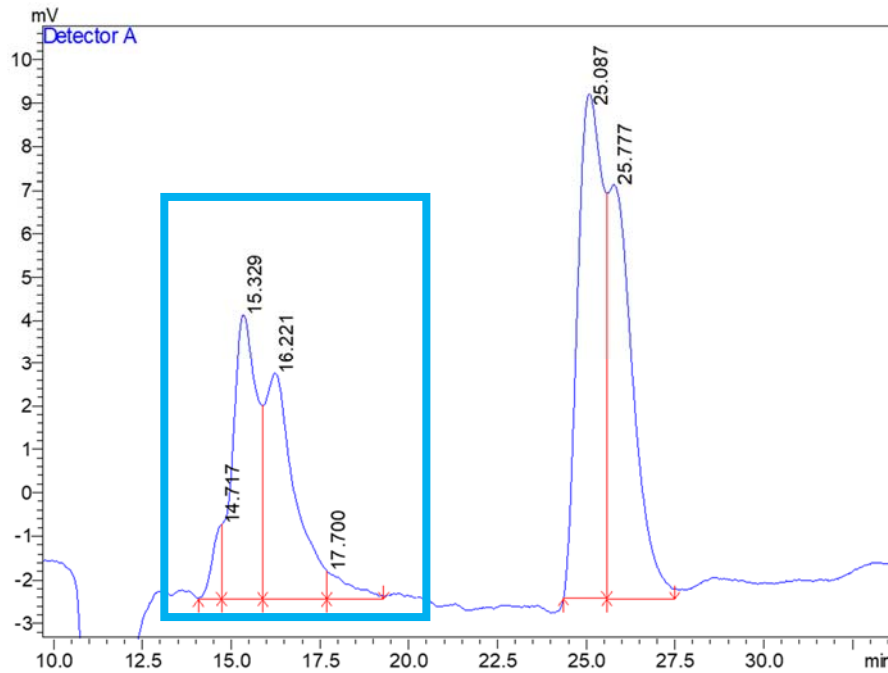


figura 32, Cromatograma con Shodex: réplica 1 de posos de café

Con esta columna se midieron primero los monosacáridos, sin embargo, todos los azúcares salían a un un tiempo de retención parecido, dando lugar a que coeluyeran todos en un mismo pico cromatográfico como se ve en la figura 32. Por consiguiente, con la columna shodex, no es recomendable para analizar azúcares.

En la figura 32, además del pico coeluido con los azúcares que está recuadrado en azul, existe otro pico cromatográfico a un tiempo de retención mayor. Este pico no corresponde ni a un monosacárido ni a un inhibidor, por lo que puede ser o una contaminación o una curva característica de los cromatogramas obtenidos con la columna shodex ya que aparece en todas las réplicas de ambos residuos.

Debido a que con esta columna se puede utilizar una fase fluida ácida, es idónea para medir concentraciones de inhibidores, porque pueden tener carácter ácido. Los inhibidores analizados fueron: HMF, furfural, ac. Levulínico, ac. Acético y ac. Fórmico.

El equipo no detectó trazas de inhibidores ni en la piel de plata ni en los posos de café. En las figuras 33 y 34, se exponen dos ejemplos: Las muestras de residuo no presentan ningún pico en los tiempos de retención de los inhibidores, y esto ocurren en ambos residuos con todos los inhibidores.

Sin embargo, es altamente improbable que después de haber hidrolizado un residuo lignocelulósico, no aparezca ningún inhibidor porque son subproductos del hidrólisis. (Verhagen, 2018) en su análisis de inhibidores utiliza curvas de calibrado con puntos entre 0,01 y 0,2 g/L para el HMF y el furfural porque afirma que con ese rango es más idóneo para la detección de inhibidores. Por el contrario, como los patrones que se utilizaron en este trabajo de fin de grado tenían concentraciones entre 0,1 y 5 g/L, es más acertado afirmar que la concentración en las muestras de inhibidores es menor de 0,1 g/L. En cualquier caso, debido a que el objetivo principal de este trabajo es la búsqueda de opciones y valorización, no creímos conveniente analizar los inhibidores a tan bajas concentraciones

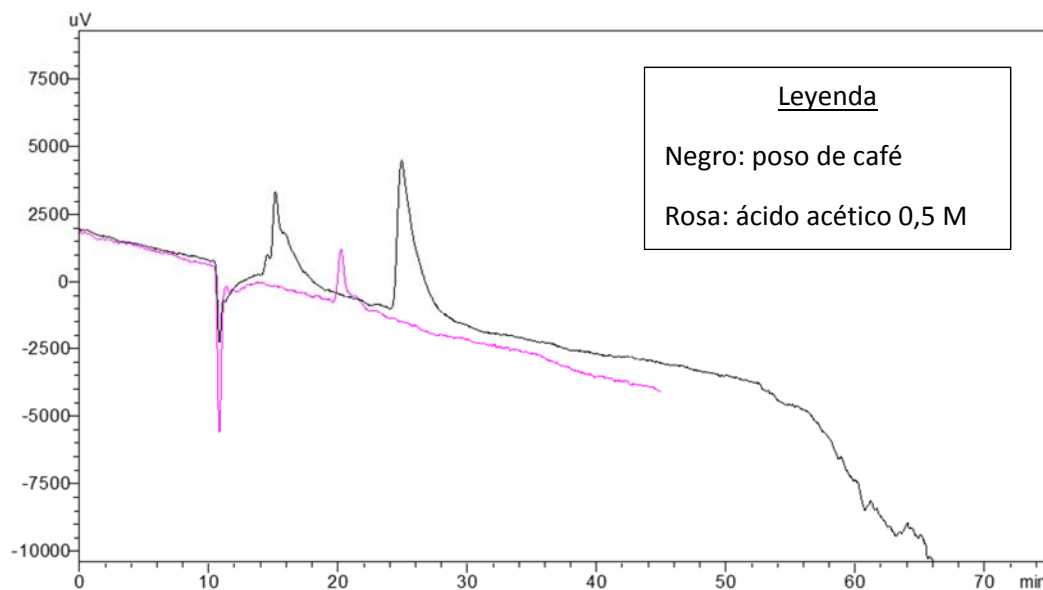


figura 33. Cromatograma con columna Shodex: Replica 1 de posos de café y 0,5 g/L de ácido acético

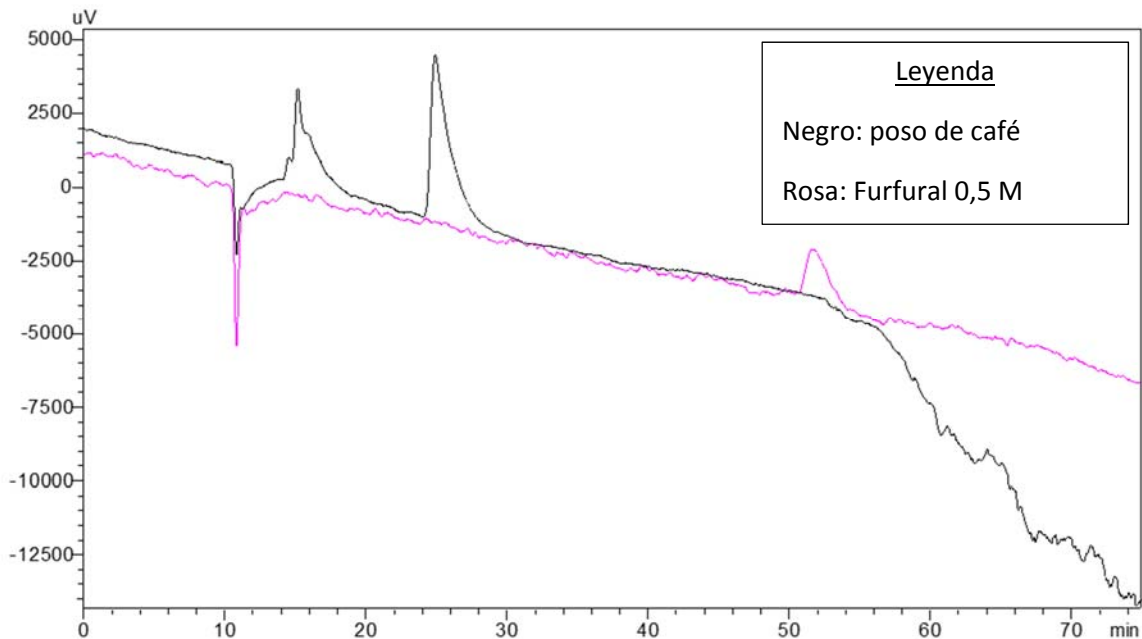


figura 34. Cromatograma con columna Shodex: Réplica 1 de posos de café y 0,5 g/L de furfural

7. Conclusiones

El trabajo de fin de grado ha abordado una etapa inicial de posibles vías de valorización dentro del concepto de biorrefinería en la industria del café. Para ello, inicialmente se ha realizado un estado del arte de los residuos del café, añadiéndose un esquema donde aparecen todos los residuos en función del proceso. A continuación, se realizó un estudio bibliográfico de los principales métodos de caracterización con el objetivo de estudiar las vías de valorización en los dos residuos seleccionados por su volumen.

Las conclusiones de la caracterización química de los residuos provenientes del café son los siguientes:

- El contenido de lípidos afecta a la caracterización celulosa y hemicelulosa con la metodología de Van Soest, pudiéndose afirmar que se obtienen datos más precisos analizando las muestras libres de extractivos: en piel de plata 33,73% de celulosa y 4,68 de hemicelulosa mientras que en los posos de café 14,95% de celulosa y 41,12% de hemicelulosa. Estos datos dan lugar a afirmar que la fracción más grande en los residuos del café está compuesta por celulosa y

hemicelulosa. Respecto a la fracción de lignina, no se ve afectada por el contenido de extractivos y se mantiene en un rango de 33-34%

- Ambos residuos al poseer altas cantidades de polisacáridos son aptos para compostaje, vermicompostaje y todas las aplicaciones que implique hidrólisis para una posterior fermentación (ej. Etanol), tratamiento ácido (ej. Furfural), hidrogenación (ej. Arabitol) o esterificación (ej. Emulsionante).
- La piel de plata al contener más celulosa, es más adecuada para la obtención de sorbitol y otros compuestos derivados de la fermentación e hidrólisis de la celulosa.
- Los posos de café tienen un contenido de grasas mayor, lo cual es más apto para la producción de biodiesel o polihidroxialcanoatos.
- El HPLC ha detectado la presencia de glucosa, galactosa, arabinosa y manosa en ambos residuos. Sin embargo, la piel de plata presenta también xilosa. En las réplicas no se ha detectado celobiosa. Ambos residuos son aptos para producir arabitol, manitol y galactitol aunque solo la piel de plata podría ser una fuente de xilitol.
- El monosacárido mayoritario es la arabinosa en ambos residuos, aunque en el poso de café existe una fracción importante de manosa.

La columna SHODEX no es apta para medir azúcares debido que no separa adecuadamente los picos cromatográficos, dando como resultado una coelución de todos los monosacáridos. Los inhibidores con la columna SHODEX aparecen en tiempos de retención separados, pero no son detectados en las muestras en ningún caso. Dado que los inhibidores son un subproducto de la hidrólisis, si no se han detectado, se debe a estar presentes en muy baja concentración en nuestras réplicas, y es posible que requiera una recta de calibrado distinta.

En posibles investigaciones futuras, se plantean las siguientes opciones:

- seguir con la caracterización química de otras fracciones presentes en los residuos del café, como las proteínas, ácidos grasos u otros componentes de alto valor añadido, como la cafeína, el ácido clorogénico y melanoidinas.
- Estudiar el rendimiento de combustión para la obtención de energía.

- Desarrollar productos que se han sugerido en este trabajo de fin de grado como posibles vías de valorización.

8. Bibliografía

- Arteaga Pérez, L., Casas-Ledón, Y., Rodríguez-Machín, L. and Peralta-Suarez, L. (2013). *Perspectivas para incrementar la sostenibilidad de la industria azucarera mediante el desarrollo de biorrefinerías*.
- Artículo.mercadolibre.com.ar. (2019). *Plantines De Cafeto Orgánicos Coffea Arabica Tu Propio Cafe - \$ 600,00*. [online] Available at: https://articulo.mercadolibre.com.ar/MLA-645005029-plantines-de-cafeto-organicos-coffea-arabica-tu-propio-cafe-_JM [Accessed 15 Sep. 2019].
- Balboa C., C. and Domínguez Somonte, M. (2014). Circular economy as an ecodesign framework: the ECO III model. *Informador Técnico*, 78(1), p.82.
- Ballesteros, L., Teixeira, J. and Mussatto, S. (2014). Chemical, Functional, and Structural Properties of Spent Coffee Grounds and Coffee Silverskin. *Food and Bioprocess Technology*, 7(12), pp.3493-3503.
- Burniol-Figols, A., Cenian, K., Skiadas, I. and Gavala, H. (2016). Integration of chlorogenic acid recovery and bioethanol production from spent coffee grounds. *Biochemical Engineering Journal*, 116, pp.54-64.
- Cafedecolombia.com. (2019). *Una bonita historia | Café de Colombia*. [online] Available at: http://www.cafedecolombia.com/particulares/es/el_cafe_de_colombia/una_bonita_historia/ [Accessed 16 Sep. 2019].
- Cafés Macaibo. (2019). *Café Natural, torrefacto y mezcla, ¿Conoces las diferencias? | Cafés Macaibo*. [online] Available at: <http://www.cafesmocaibo.com/cafe-natural-torrefacto-y-mezcla-conoces-las-diferencias/> [Accessed 15 Sep. 2019].
- Campos-Vega, R., Loarca-Piña, G., Vergara-Castañeda, H. and Oomah, B. (2015). Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects. *Trends in Food Science & Technology*, 45(1), pp.24-36.

- Duarte, G., Pereira, A. and Farah, A. (2010). Chlorogenic acids and other relevant compounds in Brazilian coffees processed by semi-dry and wet post-harvesting methods. *Food Chemistry*, 118(3), pp.851-855.
- Guarnizo Franco, A., Martínez Yépes, P. and Valencia Sánchez, H. (2009). Pretratamientos de la celulosa y biomasa para la sacarificación. *Scientia et Technica*, XV(42), pp.284-289.
- Hughes, S., López-Núñez, J., Jones, M., Moser, B., Cox, E., Lindquist, M., Galindo-Leva, L., Riaño-Herrera, N., Rodriguez-Valencia, N., Gast, F., Cedeño, D., Tasaki, K., Brown, R., Darzins, A. and Brunner, L. (2014). Sustainable conversion of coffee and other crop wastes to biofuels and bioproducts using coupled biochemical and thermochemical processes in a multi-stage biorefinery concept. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(20), pp.8413-8431.
- Ico.org. (2019). *International Coffee Organization - Historia del café*. [online] Available at: http://www.ico.org/ES/coffee_storyc.asp [Accessed 16 Sep. 2019].
- ISO. (2019). *ISO 14453:1997*. [online] Available at: <https://www.iso.org/standard/24336.html> [Accessed 16 Sep. 2019].
- Janissen, B. and Huynh, T. (2018). Chemical composition and value-adding applications of coffee industry by-products: A review. *Resources, Conservation and Recycling*, 128, pp.110-117.
- Kovalcik, A., Obruca, S. and Marova, I. (2018). Valorization of spent coffee grounds: A review. *Food and Bioproducts Processing*, 110, pp.104-119.
- Llano, T., Quijorna, N., Andrés, A. and Coz, A. (2017). Sugar, acid and furfural quantification in a sulphite pulp mill: Feedstock, product and hydrolysate analysis by HPLC/RID. *Biotechnology Reports*, 15, pp.75-83.
- Malongo.com. (2019). [online] Available at: <https://www.malongo.com/es/valores/calidaddelaplantacionalataza-elcultivodelcafe.php?page=156> [Accessed 15 Sep. 2019].
- Mussatto, S., Machado, E., Martins, S. and Teixeira, J. (2011). Production, Composition, and Application of Coffee and Its Industrial Residues. *Food and Bioprocess Technology*, 4(5), pp.661-672.

- Oalib.com. (2019). Van Soest, P.J. and Wine, R.H. (1967) Use of Detergent in the Analysis of Fibrous Feeds. IV. Determination of Plant Cell-Wall Constituents. Journal of the Association of Analytical Chemist, 50, 50-55. - Open Access Library. [online] Available at: <http://www.oalib.com/references/15534973> [Accessed 16 Sep. 2019].
- Obruca, S., Benesova, P., Petrik, S., Oborna, J., Prikryl, R. and Marova, I. (2014). Production of polyhydroxyalkanoates using hydrolysate of spent coffee grounds. Process Biochemistry, 49(9), pp.1409-1414.
- Pigden, W., Balch, C. and Graham, M. (1980). Standardization of analytical methodology for feeds. Ottawa: IDRC.
- Prada, R. (2014). La ciencia del café (I): De la planta a la taza | Hablando de Ciencia. [online] Hablando de Ciencia. Available at: <http://www.hablandodeciencia.com/articulos/2014/10/20/la-ciencia-del-cafe-i-de-la-planta-a-la-taza/> [Accessed 16 Sep. 2019].
- Putri, S., Yusianto, Bamba, T. and Fukusaki, E. (2016). Quantification of coffee blends for authentication of Asian palm civet coffee (Kopi Luwak) via metabolomics: A proof of concept. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 122(1), pp.79-84.
- Rivas Siota, S. (2014). *Valorización de hemicelulosas de biomasa vegetal*. Ph.D. Universidad de Vigo.
- Rojo Jiménez, E. and Pérez-Urria Carril, E. (2014). Café (G. Coffea). *Reduca (Biología). Serie Botánica*, [online] 7(2), pp.113-1132. Available at: <http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/1757/1770> [Accessed 15 Sep. 2019].
- Rueda, C., Calvo, P., Moncalián, G., Ruiz, G. and Coz, A. (2014). Biorefinery options to valorize the spent liquor from sulfite pulping. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 90(12), pp.2218-2226.
- Teketay, D. (1999). History, Botany and ecological requirements of coffee. *Walia*, 20, pp.28-50.
- Un.org. (2019). *Población*. [online] Available at: <https://www.un.org/es/sections/issues-depth/population/index.html> [Accessed 16 Sep. 2019].

- van Buren, N., Demmers, M., van der Heijden, R. and Witlox, F. (2016). Towards a Circular Economy: The Role of Dutch Logistics Industries and Governments. *Sustainability*, 8(7), p.647.
- Van Soest, P. and McQueen, R. (1973). The chemistry and estimation of fibre. *Proceedings of the Nutrition Society*, 32(3), pp.123-130.
- Van Soest, P. and wine, R. (1967). Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of Plant Cell-Wall Constituents. *Journal of the A.O.A.C*, 50(1), pp.50-55.
- Verhagen, S. (2018). Improving The Value of Spent Coffee Grounds by Converting Carbohydrates into fermentable Sugars. Bachelor. Wageningen University & Research.
- Viel, M., Collet, F. and Lanos, C. (2018). Chemical and multi-physical characterization of agro-resources' by-product as a possible raw building material. *Industrial Crops and Products*, 120, pp.214-237.
- Zarrinbakhsh, N., Wang, T., Rodriguez-Urbe, A., Misra, M. and Mohanty, A. (2016). Characterization of Wastes and Coproducts from the Coffee Industry for Composite Material Production. *BioResources*, 11(3).