

**REVISIÓN DE PROCESOS BIOLÓGICOS PARA EL APROVECHAMIENTO DE  
PULPA DE CAFÉ RESIDUAL**

**PAULA DANIELA HERNANDEZ ARRIETA**

**Proyecto integral de grado para optar al título de  
Ingeniero Químico**

**Director**

**DIANA MILENA MORALES FONSECA  
Microbióloga Industrial, Msc Ingeniería Química**

**Orientador**

**EDGAR FERNANDO MORENO TORRES  
Ingeniero Químico**

**FUNDACION UNIVERSIDAD DE AMÉRICA  
FACULTAD DE INGENIERIAS  
PROGRAMA DE INGENIERIA QUIMICA  
BOGOTA D.C.  
2021**

**Página de aceptación**

---

---

---

---

---

---

---

**Nombre**  
**Firma del Director**

---

**Nombre**  
**Firma del presidente del Jurado**

---

**Nombre**  
**Firma del Jurado**

---

**Nombre**  
**Firma del Jurado**

**Bogotá D.C. febrero de 2021.**

## **DIRECTIVOS DE LA UNIVERSIDAD**

Presidente de la Universidad y Rector del Claustro

**Dr. MARIO POSADA GARCÍA- PEÑA**

Consejero Institucional

**Dr. LUIS JAIME POSADA GARCÍA-PEÑA.**

Vicerrectora Académica y de Investigaciones.

**Dra. MARÍA CLAUDIA APONTE GONZÁLEZ**

Vicerrector Administrativo y Financiero.

**Dr. RICARDO ALFONSO PEÑARANDA CASTRO.**

Secretaria General

**Dr. ALEXANDRA MEJÍA GUZMÁN**

Decano de la Facultad de Ingenierías

**Ing. JULIO CÉSAR FUENTES ARISMENDI.**

Director del programa de Ingeniería Química.

**Ing. NUBIA LILIANA BECERRA OSPINA.**

## DEDICATORIA

Principalmente le doy las gracias a Dios por permitirme llegar hasta este punto, darme una familia que siempre me ha apoyado y querido incondicionalmente a pesar de las adversidades. Darle las gracias a mi papá Roger Hernández, a mi mamá Ibeth Arrieta y mi hermano Juan Pablo los cuales amo con todo mi corazón, por motivarme y hacerme la mujer que hoy en día soy con virtudes, defectos, enseñándome con amor, paciencia y tolerancia.

Seguido a esto le doy gracias mi novio Héctor, que ha sido incondicional conmigo. Motivándome en cada paso y apoyándome cuando más lo necesitaba. A mi prima Nicole Arrieta por enseñarme y dedicar parte de su tiempo aconsejándome en la realización del proyecto. Infinitas gracias a todos mis amigos y a aquellas personas que siempre estuvieron conmigo en esta etapa que aun estuvo de llena de momentos difícil también se llenó de alegría haciendo de esto un aprendizaje tanto académico, como emocional.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi directora de tesis Diana Milena Morales Fonseca, por brindarme su apoyo en el desarrollo y culminación del proyecto, dándome los mejores consejos y orientándome cuando más lo necesitaba. Al ingeniero Fernando Moreno por dedicar su tiempo para revisar y realizar las correcciones pertinentes. Agradezco a mis papás Roger e Ibeth, a mi hermano por estar conmigo cuando más lo necesitaba. Agradecida con todos los docentes que formaron parte de mi crecimiento, fortaleciendo el conocimiento adquirido en las diferentes materias cursadas.

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuesta en el presente documento. Estos corresponden únicamente a los autores.

## TABLA DE CONTENIDO

	pág.
RESUMEN	13
INTRODUCCIÓN	14
OBJETIVOS	16
<b>1. GENERALIDADES</b>	<b>17</b>
1.1. Origen Botánico del Coffea Arábica	17
1.1.1. Geografía del café en Colombia	18
1.1.2. Cereza del café	20
1.2. Producción del café	20
1.2.1. Procesamiento por medio seco	21
1.2.2. Beneficio húmedo del café en Colombia	21
1.3. Generación de residuos agroindustriales del café	23
1.3.1. Subproductos residuales.	24
1.3.2 Polifenoles	26
1.3.3. Métodos para cuantificar polifenoles	31
1.4. Tratamientos empleados para los residuos	32
1.4.1. Tratamientos Físicos	33
1.4.2. Tratamientos Químicos	33
1.4.3. Tratamientos Biológicos	34
1.4.4. Mecanismos para el tratamiento biológico	36
1.4.5. Ventajas y desventajas de los tratamientos biológicos	37
<b>2. COMPOSICIÓN DE LA PULPA DE CAFÉ</b>	<b>39</b>
2.1. Metodología	39
2.1.1. Revisión de la literatura	39
2.1.2. Palabras Clave	39
2.1.3. Estrategias de búsqueda	40
2.2. Compuestos químicos presentes en la pulpa de café residual	45
2.2.1. Antocianinas	50
2.2.2. Ácidos hidroxicinámicos	51
<b>3. APROVECHAMIENTO DE LA PULPA DE CAFÉ RESIDUAL</b>	<b>54</b>
3.1. Metodología	54
3.1.1. Revisión de la literatura	54

3.1.2. Estrategias de búsqueda	55
3.2. Tecnologías de conversión para la biomasa residual	56
3.3. Utilización de microorganismos para el aprovechamiento de compuesto de la pulpa de café residual	57
3.3.1. Fines alimenticios (Degradación)	59
3.3.2. Actividad antioxidante	61
3.3.3. Obtención de extractos y enzimas	63
4. TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS EMPLEADOS PARA LA RECUPERACIÓN DE POLIFENOLES EN PULPA DE CAFÉ	73
4.1 Matriz descriptiva de los aprovechamientos de la pulpa de café residual	73
5. CONCLUSIONES	79
BIBLIOGRAFÍA	81

## LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Mapa de Colombia.	18
Figura 2. Partes de la cereza del café.	20
Figura 3. Proceso seco del café.	21
Figura 4. Proceso húmedo del café.	23
Figura 5. Estructura principal de algunos polifenoles.	27
Figura 6. Gráfica circular correspondiente a las bases de datos utilizadas.	41
Figura 7. Representación gráfica de los años de publicación vs cantidad de documentos.	42
Figura 8. Gráfica de los países con mayor documentación.	42
Figura 9. Flujograma de infomación capítulo 2.	43
Figura 10. Comparación entre las cuatro bases de datos.	44
Figura 11. Flujograma de infomación capítulo 3.	55
Figura 12. Aprovechamiento de polifenoles de forma indirecta.	57
Figura 13. Aprovechamiento de polifenoles forma directa.	58
Figura 14. Diagrama obtención de compuestos polifenólicos.	74

## LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Taxonomía Coffea Arábica.	17
Tabla 2. Cultivos arábigos.	19
Tabla 3. Ejemplos de polifenoles.	28
Tabla 4. Algunos tratamientos físicos.	33
Tabla 5. Tratamientos químicos.	34
Tabla 6. Ventajas y desventajas de los tratamientos.	38
Tabla 7. Estrategia de búsqueda.	40
Tabla 8. Componentes de la pulpa de café.	46
Tabla 9. Determinación de sustancias presentes en la pulpa de café.	47
Tabla 10. Contenido de ácidos hidroxycinámicos.	52
Tabla 11. Contenido de polifenoles según los autores.	52
Tabla 12. Términos de búsqueda.	54
Tabla 13. Extractos polifenólicos en pulpa de café.	63
Tabla 14. Composición de los subproductos del café.	64
Tabla 15. Tratamientos empleados para la obtención de compuestos de interés.	66
Tabla 16. Resumen de algunos artículos empleados.	70
Tabla 17. Resumen de tratamientos encontrados.	75

## LISTA DE ABREVIATURAS

**%:** porcentaje.

**h:** hora.

**°C:** grados Celsius.

**Aprox:** aproximadamente.

**Vol:** volumen.

**pp:** paginas.

**n°:** número.

**FS:** fermentación en estado líquido.

**FSS:** fermentación en estado sólido.

**pH:** potencial de hidrogeno.

**ppm:** partes por millón.

**kg:** kilogramos.

**g:** gramos.

**mg:** miligramos.

**rpm:** revolución por minuto.

**HCL:** ácido clorhídrico.

**FRAP:** técnica de poder de reducción ferrosa.

**Trolox:** ácido 6-hidroxi-2-5-7-8-tetrametil-croman-2-carboxílico.

**DM:** materia seca.

**μmol:** micromol.

**N:** nitrógeno.

**p/v:** peso/ volumen.

**v/v:** volumen/ volumen.

**g/L:** gramo/ litro.

**nm:** nanómetro.

**EGA:** extracto de ácido gálico.

**μg/mL:** micro gramo/ mililitro.

**Lb:** libra.

**HPLC:** cromatografía líquida de alto rendimiento.

**DDPH:** 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo.

**ABTS:** 2,2'-azino-bis- (3-etil benzotiazolin-6- sulfonato de amonio).

**IC<sub>50</sub>:** concentración inhibitoria.

**AH:** ácido hidroxicinámico.

**ChA:** ácido clorogénico.

**FAE:** enzima feruloil esterasa.

**CO<sub>2</sub>:** dióxido de carbono.

**QA:** ácido quínico.

**CA:** ácido cafeico.

**PA:** ácido protocatecuico.

**U/g:** unidades/ gramo.

**min:** minutos.

**t:** tiempo.

## RESUMEN

Debido a la creciente demanda y el consumo de la población en Colombia, actualmente en el procesamiento de los productos agrícolas se generan alrededor de 71.943.814 toneladas de biomasa residual al año entre la producción de café, maíz, arroz, banano entre otros. La inadecuada disposición final hace que estos residuos terminen en rellenos sanitarios o incinerados, ocasionando un impacto ambiental negativo directo en la naturaleza, provocando niveles de contaminación que afectan a todos los seres vivos, que está provocando lentamente la destrucción de la casa común donde habitamos.

Por lo anterior, se debe tener en cuenta, que, en Colombia, la producción de café es el sector agrícola más relevante del país, en el que se produce al año aproximadamente 942.327 toneladas para comercializar [1], pero está provocando niveles de contaminación preocupantes, ya que el procedimiento del grano cosechado se realiza a través del beneficio húmedo para otorgarle aromas y sabores suaves, pero la pulpa de café como subproducto es el mayor contaminante.

El presente trabajo es una revisión de literatura sistemática de los últimos 20 años. Como criterio de exclusión se estableció no contemplar los artículos que no evalúan la pulpa de café de la especie Coffe arábica, porque que es la que se siembra y procesa en Colombia. Se describen los diferentes métodos biológicos a través de diferentes técnicas que utilizan microorganismos como hongos y bacterias para la identificación de los polifenoles presentes en los residuos de la pulpa de café y posibilitar la recuperación de dichos compuestos los cuales son potencialmente útiles para la industria química. El estudio demuestra que esta es una línea potencial que se debe seguir analizando en el país, la cual está poco desarrollada y explorada, siendo una alternativa para reducir los efectos negativos que cada vez más son mayores en el medio ambiente, donde se depositan los desechos del procesamiento de café.

**Palabras claves:** polifenoles, pulpa de café, compuestos químicos, fermentaciones, microorganismos.

## INTRODUCCIÓN

La industria cafetera es uno de los sectores más importantes en Colombia y América Latina. “Se encuentran que alrededor de 70 países han producido café a nivel mundial, tres de los cuales representan, en estos últimos quince años cerca del 55% del total de la producción: Brasil (32-34%), Vietnam (12-13%) y Colombia (8-9%)” [1]. Dada esta productividad, en Colombia cerca de 540.000 familias cafeteras son beneficiadas por el consumo de este producto, lo que no solo les da un sustento diario, sino que también impulsa la economía del país. Adicionalmente, Colombia se encuentra entre los principales exportadores de café arábico y por ende es el primero en la categoría suave lavado por las características organolépticas que se presentan durante el proceso del beneficio húmedo.

Debido a su alta importancia económica , se generan cerca de 784.000 toneladas/año de biomasa residual , donde solo se emplea el 9,5% del total del fruto, el restante (90,5%) se convierte en desechos los cuales se componen de mucilago, pulpa, tallos, cisco, borra y pasillas [2]. La pulpa de café corresponde al 40% con mayor impacto ambiental y el que menos es aprovechado para la obtención de otros compuestos o producción de diversos productos. “Dentro de su composición se pueden encontrar compuestos bioactivos como proteínas y azúcares, que pueden causar fermentación de los cuerpos de agua. Así como taninos, alcaloides y polifenoles que son de difícil degradación biológica”[3].

El presente proyecto consta de una revisión de las diferentes técnicas en las que se puede aprovechar la pulpa de café a partir de tratamientos biológicos para la recuperación de compuestos polifenólicos en mayor proporción ácidos orgánicos, además de las diferentes técnicas de cuantificación de estos. El documento muestra aspectos generales del café y su producción, la caracterización de la pulpa de café a nivel teórico con la bibliométrica empleada en función al contenido de polifenoles y otros compuestos. Para los agentes biológicos se realiza la respectiva investigación de los documentos encontrados en donde los hongos filamentosos presentan una mejor capacidad de liberar este tipo de sustancias, finalmente se seleccionan los tratamientos biológicos en los que se obtienen compuestos polifenólicos como ácidos

hidroxicinámicos, hidroxibenzoico y flavonoides, a su vez se muestran las respectivas conclusiones y recomendaciones finales.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

- Identificar métodos biológicos que permitan el aprovechamiento de polifenoles presentes en la pulpa de café residual.

### **Objetivos Específicos**

- Determinar el contenido de polifenoles presentes en la pulpa de café residual a nivel teórico.
- Describir la utilización de agentes biológicos para el aprovechamiento de los polifenoles presentes en pulpa de café.
- Seleccionar los tratamientos biológicos con mayor recuperación de polifenoles en pulpa de café.

## 1. GENERALIDADES

### 1.1. Origen Botánico del Coffea Arábica

«Es un Arbusto leñoso, hasta de 7 metros de altura. Tallo delgado y recto. Hojas perennes, opuestas, lanceoladas. Flores sésiles, infundibuliformes, blancas, fragantes, reunidas en racimos axilares. Frutos en forma de drupas, las drupas poseen dos huesos que contienen una semilla cada uno. Cada semilla está provista de un pequeño embrión y de un albumen córneo (plano, por un lado, convexo por el otro), con un pliegue ventral o surco. La parte comestible está constituida por el albumen de la semilla. Los frutos se desarrollan muy lentamente (entre 6 y 8 meses como mínimo), de color primero verde, después amarillo y al final rojo en la madurez.» [4].

**Tabla 1.**

*Taxonomía Coffea Arábica.*

<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Sub-división</b>	Angiospermae
<b>Clase</b>	Magnoliata
<b>Sub-clase</b>	Asteridae
<b>Orden</b>	Rubiales
<b>Familia</b>	Rubiaceae
<b>Genero</b>	Coffea
<b>Especies</b>	Arábica Canephora Liberica Dewevrei

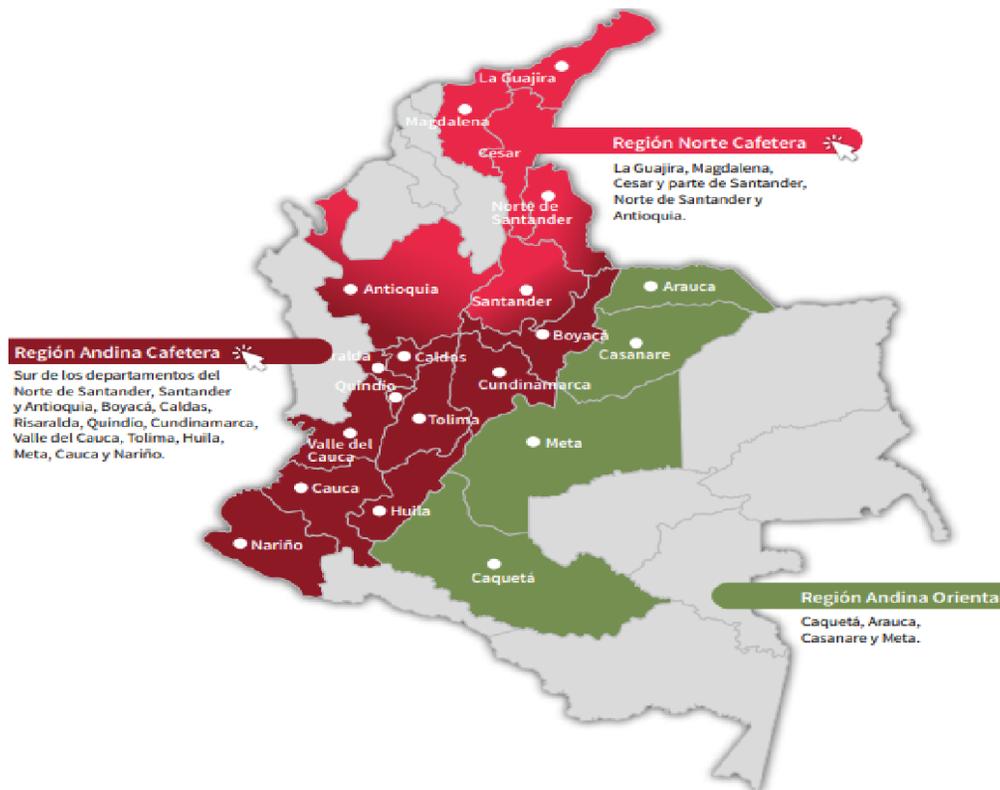
**Nota.** Descripción detallada de los aspectos botánicos de la planta de café. Tomado de: M. Félix. “Determinación de ácidos clorogénicos y cafeico, cafeína, polifenoles totales y actividad antioxidante de tres variedades de café”. Repositorio universidad nacional agraria de la selva, tesis, 2012. [En línea] <http://repositorio.unas.edu.pe/handle/UNAS/282>. [Fecha de acceso] 23/08/2020.

### 1.1.1. Geografía del café en Colombia

Colombia es uno de los países caficultores de América Latina, dada su ubicación geográfica le permite la cosecha y producción de uno de los mejores en la categoría Suave. El árbol de café característico es el Coffea Arábica, sus variedades son cosechadas por etapas y se distribuyen entre las cordilleras central, oriental y occidental (figura 1) [5]. Aproximadamente se encuentra que se cultivan 6 tipos de esta planta en donde encontramos: Típica, Borbón, Tabí, Maragogipe, Caturra y Variedad Colombia (tabla 2). Cada uno posee diferentes características que le otorgan propiedades de muy buena calidad al café producido y su cereza puede ser de un color rojo o amarillo [6].

**Figura 1.**

*Mapa de Colombia.*



**Nota:** Distribución de producción del café en los distintos departamentos de Colombia. Tomado de: Cenicafe “boletín agro meteorológico cafetero”, 2017. [Enlínea]<https://agroclima.cenicafe.org/documents/20181/48301/Boletin21/6dc83f27-0a83-4465-> [Fecha de acceso] 28/08/2020.

**Tabla 2.***Cultivos arábicos*

<b>Variedades Café Arábigos</b>	<b>Características</b>	<b>Producción</b>
Típica	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sus granos de café son más grandes que los Caturra y Borbón.</li> <li>• Las hojas son alargadas y de color bronceado.</li> <li>• Se siembran 2.500 árboles aprox. Por hectárea.</li> <li>• Producción Alta.</li> </ul>	Alta
Borbón	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Las hojas son redondeadas, verdosas.</li> <li>• Se siembra misma cantidad como la variedad Típica.</li> <li>• Produce más del 30% que un árbol de Típica.</li> </ul>	Alta
Tabí	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Planta hibridada entre la variedad Típica y Borbón.</li> <li>• Su grano es de gran tamaño.</li> <li>• Resiste a plagas (roya).</li> <li>• Se siembran hasta 3000 plantas.</li> </ul>	Alta
Caturra	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cogollo color verde claro.</li> <li>• Las hojas son redondas.</li> <li>• Susceptible a la roya.</li> <li>• Granos pequeños.</li> </ul>	Media
Variedad Colombia	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cogollos Bronceados.</li> <li>• Susceptible a la roya</li> <li>• Granos grandes.</li> </ul>	Alta

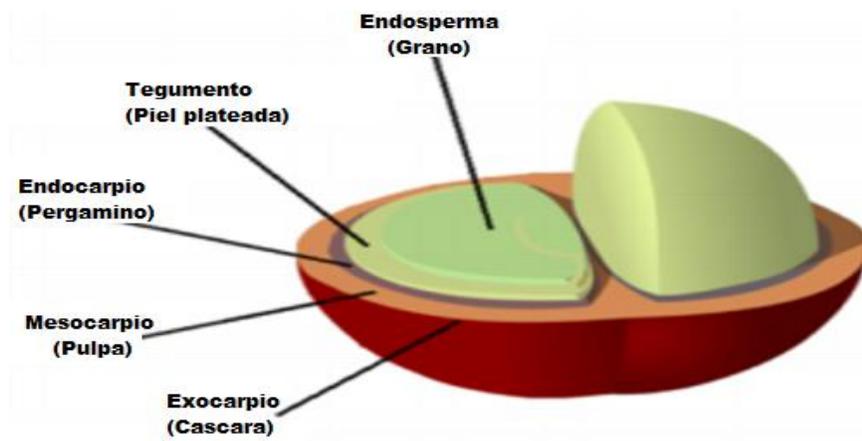
**Nota.** Descripción de los diferentes tipos de café arábigos cultivados en los cafetales colombianos, en donde la información se sintetizó en una tabla y se omitió una clase de café. Tomado de: E, Echeverri. "Variedades de café sembradas en Colombia". [En línea] <https://cenicafe.org/es/publications/C1.pdf> [Fecha de acceso] 28/08/2020.

### 1.1.2. Cereza del café

El fruto del café está constituido por “la piel (epicarpio o exocarpio), la cual es una capa que protege el fruto, normalmente se encuentra de color rojo, amarillo y en algunos casos rosa oscuro que hace referencia al mucilago, pulpa (mesocarpio) es una viscosa capa pectinácea de mucílago adherida al pergamino (endocarpio), película plateada y semilla compuesta principalmente de polisacáridos (celulosa, hemicelulosa) y monosacáridos, proteínas, polifenoles, y otros compuestos” [7] (figura 2). La parte primordial es la semilla o grano, por lo que se despulpa y se realizan diferentes lavados para la obtención de esta. Para la elaboración del café a nivel industrial se puede utilizar tanto el fruto de color rojo, como el de color verde.

**Figura 2.**

*Partes de la cereza del café.*



**Nota.** Morfología de la cereza del café, en donde se modificaron los nombres traduciéndolos al español. Tomado de: A. Farah & colaboradores. “The coffee plant and beans: An introduction”. Academic Press, pp. 5-10, 2015. [En línea] <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00001-2> [Fecha de acceso] 25/09/2020.

### 1.2. Producción del café

El proceso de transformación de la cereza de café en un producto comercializable o café oro (también llamado café verde) se conoce como beneficiado del café. Para obtener el beneficio del café la cereza debe pasar por diferentes procesos, los cuales

dependen de los tipos de café. El café suave lavado, del cual Colombia es el principal exportador, se obtiene del procesamiento por medio húmedo, mientras que los tipos de café más fuertes, como los exportados por Brasil, se obtienen por el procesamiento en medio seco.

### 1.2.1. *Procesamiento por medio seco*

Para la obtención del café tipo fuerte es necesario que la fruta se deje sobre madurar en la misma planta hasta que manifieste un secado parcial. Este proceso de sobre maduración permite cosechar de una vez gran cantidad de frutos, los cuales se cree que por maduración natural obtienen mejores propiedades organolépticas. Una vez cosechado el fruto del café, se despulpa y se lava, después se pasa a secar al sol. Al final se vuelve a lavar y se le quita la película plateada para así obtener el grano verde del café [7], como se muestra en la figura 3.

**Figura 3.**

*Proceso seco del café.*



**Nota.** Representación gráfica del proceso seco para la producción de café, plasmando las operaciones más importantes. Tomado de: M. Kleinwächter. “Coffee Beans and Processing” Academic Press, pp. 73-81, 2015. [En línea] <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00009-7>. [Fecha de acceso] 25/09/2020.

### 1.2.2. *Beneficio húmedo del café en Colombia*

Este proceso es el más utilizado en Colombia, debido a que otorga excelentes características organolépticas al café. Luego de la recolecta de las cerezas se limpian en tanques de agua eliminando las impurezas como cerezas no maduras, rocas, hojas, tallos y tierra, dejando a su vez una selección de aquellas que cumplen las características adecuadas para continuar el proceso [7]. Seguido de esto se hace el despulpado mecánico a través de máquinas de criba vibradoras, las cuales ejerce presión sobre el fruto quitándole a las cerezas la piel, pulpa y mucilago. Cabe recalcar que aun así la fruta queda con pedazos adheridos al pergamino. Por ello, se realizan

fermentaciones en tanques grandes donde las sustancias se degradan, esta puede darse de manera natural en periodos de 12 a 18 horas en tanques de homogenización lenta; mientras que la fermentación mecánica se realiza con ayuda de una máquina de agitación rápida en el grano; además de enzimas como la Ultrazym-100 que pueden acelerar la fermentación [8]. Esta etapa durará entre 24 y 36 horas para eliminar la mayor cantidad de sustancias y evitar que los granos adquieran un sabor y olor no deseado bajando la calidad del producto final [9]. Todo esto teniendo en cuenta la temperatura, la altura de la masa, cantidad de agua, grado de madurez y la cantidad de mucilago presente en el grano.

Una vez terminada la fermentación, la mezcla obtenida (mucilago, granos y pergamino) es ingresada a unos tanques especiales con paletas en donde se lava, con el objetivo de eliminar la baba restante de mucilago y otras impurezas, normalmente se emplea por cada kilo de café entre 40-50 litros de agua limpia y se filtra ocasionalmente [8]. Posteriormente, por medio de canaletas se envía lo obtenido anteriormente a el proceso de secado que tiene como objetivo disminuir el contenido de humedad que posee el café pergamino. Se emplean diversos métodos como el secado al sol, en donde se ingresa en patios grandes que distribuyen el café constantemente y se remueve con rastrillo para obtener una humedad del 10% o 12%, esto dura entre 7 y 15 días dependiendo de las condiciones climáticas del lugar. Otro método empleado es el silo-secador en donde se pasa aire caliente a temperaturas de 60-75°C.

Finalmente se separa el pergamino seco del grano con ayuda de descascaradoras (máquina de trilla), enviando el grano almendra limpio a proceso de tostión donde se obtiene los cambios en el aroma y sabor a temperaturas altas y contraladas, para almacenarlo en bodegas o silos y posteriormente empaquetarlo [10]. Este proceso requiere un alto consumo de agua y se ve ilustrado en la figura 4.

**Figura 4.**

*Proceso húmedo del café.*



**Nota.** Esquema característico del proceso húmedo para la producción de café, en donde se colocó horizontalmente el diagrama. Tomado de: A. Farah & colaboradores. “The coffee plant and beans: An introduction”. Academic Press, pp. 5-10, 2015. [En línea] <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00001-2> [Fecha de acceso] 25/09/2020.

### **1.3. Generación de residuos agroindustriales del café**

Como se mencionó anteriormente, la producción de café se puede realizar por medio seco o por medio húmedo. En Colombia se realiza a partir del proceso húmedo por lo cual se categoriza como café suave, otorgando características organolépticas como aroma y un cierto grado de acidez que diferencian el café de otros tipos [11].

Para la reducción de corrientes contaminantes provenientes de las diversas etapas que se presentan en el procesamiento del café, la federación Nacional de Cafeteros Colombianos (a través del Centro Nacional para las investigaciones de café- Genicafé), ha propuesto a lo largo de los años nuevas tecnologías para la reducción del impacto ambiental dado por este proceso. Por lo cual se produce el Café de dos maneras, la tradicional y Becolsub (beneficiado ecológico y manejo de subproductos). En la forma tradicional el rendimiento es menor y el gasto de recursos mayor a diferencia de Becolsub, que permite un menor consumo de agua conservando la calidad de café; sin embargo, todo dependerá de las cantidades de flujo ingresadas ya que puede provocar el efecto contrario y aumentar las corrientes contaminantes. [12]

A pesar de la nueva tecnología y las normas que se establecen para la reducción y manejo de los subproductos del café, actualmente se generan al año más de 20 millones de toneladas en residuos contaminantes tanto en sustancias líquidas como sólidas de las diferentes operaciones unitarias del proceso y de la inadecuada disposición por parte de los agricultores [13]. Ya que, la vía humedad es la más empleada para el procesamiento del café “alrededor de 100 kg de frutos maduros producen el 20% de café

trillado (oro) y el 80% restante está formado por subproductos, como pulpa fresca (40%), mucílago (20%), agua (17%) y pergamino y película plateada (3%)” [14].

La mayoría de subproductos en estado sólidos provienen de los procesos de despulpado, desmucilaginado y fermentación como sólidos en suspensión, y de periodos de recolección en que son almacenados y luego son agregados en el suelo, provocando una contaminación directa en este. Los subproductos líquidos como agua y lixiviados, se dan por la descomposición de compuesto químicos como fenoles, aromáticos, polifenoles entre otros; de una mezcla entre las mieles de lavado y pulpa residual al estar en contacto con el aire, se tornan de color marrón y posteriormente a tonalidades oscuras. Dado a la alta cantidad que presentan, se vuelven tóxicos al estar en contacto con el medio ambiente, produciendo un DQO=110.000 ppm respectivamente. [15]

### **1.3.1. Subproductos residuales**

Los subproductos encontrados en el procesamiento por beneficio húmedo son pulpa, tallos, mucilago, borra, pergamino entre otras, las cuales componen el 90,5 % del fruto, el 9,5% restante es empleado en la elaboración del café. En donde la pulpa corresponde al 40% de la cereza del café, adicionalmente son vertidos aproximadamente dos millones de toneladas en donde se han adoptado diferentes métodos para su utilización como en la producción de proteínas, cafeína, pectinas, enzimas pépticas, abonos, entre otros. [2]

**1.3.1.a. Pulpa.** Es el principal subproducto del café la cual representa el 29% del peso seco del fruto, el residuo se genera del despulpado y parte de la fermentación por los lixiviados. El contenido de humedad es alto y aunque posee diferentes compuestos químicos que pueden llegar a utilizarse en diferentes procesos, provocan una compleja disposición final y a su vez aumentan la contaminación en suelos y fuentes hídricas [16]. Sin embargo, actualmente es un foco de atención dado a los componentes bioactivos que se pueden aprovechar en la alimentación animal de rumiantes, producción de energías como bioetanol, biogás, como sustrato para la producción de hongos, en compost y para la extracción de ácido clorogénico [17].

**1.3.1.b. Mucilago.** Esta parte representa el 5% en peso seco de todo el fruto del café, se encuentra entre la pulpa y el pergamino, se obtiene como residuos del proceso de fermentación y posterior lavado a esta, por lo que genera una contaminación por

lixiviados. Este subproducto posee compuestos como sustancias pécticas, proteínas, polisacáridos entre otros. Se puede utilizar en procesos para obtener pectinas y fermentaciones para producir etanol. [18]

**1.3.1.c. Pergamino.** En el procesamiento por medio húmedo el pergamino es separado después de secar y descascarar el grano almendra, como se mencionó anteriormente, generando residuos de gran importancia [18]. Sin embargo, es utilizado en extracción de biocomponentes como celulosa, lignina, hemicelulosa y en actividad antioxidante dan un impulso para investigar más a cerca de este subproducto. Además, se utiliza para la producción de etanol, biogás y en algunos procesos de pirolisis [17].

**1.3.1.d. Piel plateada.** Es una capa fina adherida al grano de café correspondiente al 4,2% del peso del fruto, se obtiene en los residuos de la etapa del tostado del café. Usualmente se emplea como fertilizante y combustible, aunque estudios han demostrado que posee fibra dietaría y además es útil para el sustrato de hongos como el *Penicillium* y *Aspergillus* [19], posee propiedades antioxidantes y potencial para actividad prebiótica [20].

**1.3.1.e. Cascara.** Esta parte externa de la cereza del café corresponde al 12%, produciendo como subproducto aproximadamente 0,18 toneladas de cascara, esta se da en la etapa del despulpado en el procesamiento húmedo que se denomina pulpa de café. En el procesamiento por vía seca se obtienen tanto la piel, pulpa, mucilago y pergamino como una sola fracción [16]. Comúnmente se emplea como sustrato en procesos de fermentación para obtención de productos como ácidos orgánicos, cafeína, antioxidantes y enzimas [17].

**1.3.1.f. Café verde de baja calidad.** Este residuo se da en la última etapa del proceso del café, en donde previo al proceso de tosti3n se realiza una selecci3n de los granos obtenidos que deben cumplir con ciertas características como color, tama3o y un cierto porcentaje de imperfecciones para evitar que en las bebidas se perciba un sabor desagradable. Actualmente este representa el 15-20% de la producci3n de café [21]. Investigaciones han demostrado que este subproducto posee compuestos antioxidantes y antiinflamatorios que pueden llegar a ser beneficiosos para ciertos problemas de salud

como tumores, por la presencia de sustancias como cafeína, ácidos clorogénicos y trigonelina [18].

Estos residuos agroindustriales poseen compuesto químicos como fenoles, proteínas, lípidos, minerales, carbohidratos, azúcares reducidos, hemicelulosa, celulosa, lignina, cafeína ,alcaloides y polifenoles [22]. Debido a la complejidad en sus estructuras, dificultan los tratamientos y a su vez generan efectos contaminantes afectando o disminuyendo la capacidad de degradación biológica. Esto provoca un desequilibrio en las partes suministradas y a su vez muerte de la vida, ya sea acuática o terrestre. Por lo cual, es importante realizar diferentes pretratamientos en donde se controle la carga orgánica para así depositar en suelos y en corrientes de aguas residuales como largos ríos, océanos y corrientes subterráneas entre otras. [15]

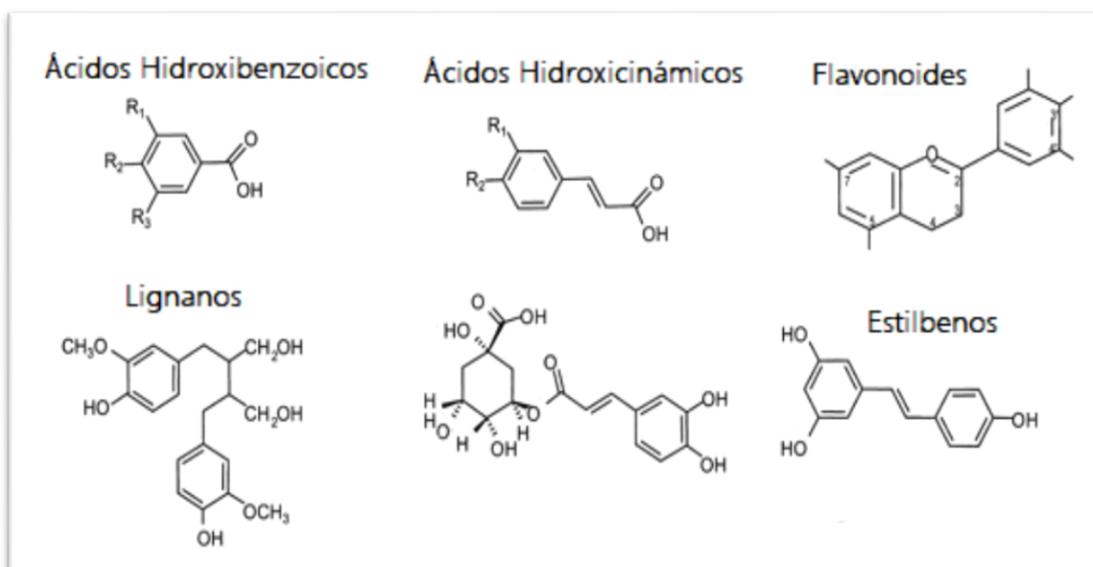
### **1.3.2. Polifenoles**

Los polifenoles son un grupo de compuestos cuya estructura molecular se caracteriza por la presencia de grupos fenólicos, los cuales se componen de anillos aromáticos unidos al menos a un grupo hidroxilo [23]. Los compuestos fenólicos también representan un riesgo para los ecosistemas cuando no se da una adecuada disposición de los mismos, especialmente en las aguas residuales [24].

Estos se clasifican según diferentes características de su estructura molecular en subgrupos como se muestra en la figura 5. Se encuentran los ácidos fenólicos, ácidos benzoicos, ácidos cinámicos y flavonoides (lignanós, proantocianidinas, cumarinas y estilbenos) [25] . También, se pueden clasificar según su solubilidad en agua que incluyen a los (ácidos fenólicos, fenilpropanoides, flavonoides y quinonas) y en no solubles (tales como los taninos condensados, ligninas y ácidos hidroxicinámicos) [26].

**Figura 5.**

*Estructura principal de algunos polifenoles.*



**Nota.** Estructuras químicas de diversas clases de compuestos polifenólicos, en donde se modificaron los nombres traduciéndolos al español. Tomado de: C. Manach & colaboradores, "Polyphenols: food sources and bioavailability" *The American Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 79, n°. 5, pp. 727–747, 2004, [En línea] <https://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727>. [Fecha de acceso] 25/09/2020.

Este tipo de compuestos están presentes en las plantas como metabolitos secundarios. "Actualmente existen alrededor de 8.000 identificados y la mayoría de estos poseen una estructura de 3 anillos, dos aromáticos (anillos A y B) y uno heterociclo oxigenado (anillo C)" [27]. Adicionalmente, también se encuentra polifenoles extraíbles y no extraíbles, lo cual dependerá del grado de polimerización y unión con otras moléculas como las proteínas, lo cual pueden generar cadenas largas de difícil obtención. Los polifenoles más representativos son los flavonoides, taninos y ácidos fenólicos. [28].

Los flavonoides son el grupo de polifenoles más amplio y reconocido, son de bajo peso molecular, siendo su fórmula química C<sub>15</sub>(C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>). La estructura básica de un flavonoide consta de dos anillos bencénicos o de fenilo (anillos A y B) unidos entre sí por un anillo de pirano heterocíclico oxigenado (anillo C) [29]. Las diferentes modificaciones en la estructura básica de este esqueleto a través de la vía de los flavonoides darán lugar a los múltiples compuestos de este grupo donde se encuentran chalconas, flavonoles,

flavanonas, antocianinas, isoflavonoides, biflavonoides y flavanoles, estos últimos pueden ser monoméricos (catequinas) o poliméricos (proantocianinas). [30]

Los taninos es un término empleado para referirse a aquellos polifenoles que presentan un peso molecular de medio a alto, es decir, entre 500 y 3000 Da. Dichos compuestos se pueden clasificar en taninos condensados o proantocianidinas, taninos hidrosolubles o pirogálicos (galotaninos y elagitaninos) y florotaninos.

Finalmente se encuentra el grupo de los ácidos fenólicos el cual se puede clasificar en ácidos hidroxicinámicos corresponde a una clase de polifenoles con estructura C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>, se pueden encontrar de manera esterificada o libres como lo son el ácido quínico y clorogénico; los ácidos hidroxibenzoico son compuestos que presentan un anillo fenólico más un grupo carboxilo (C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>), los compuestos más comunes que representan este grupo son los ácidos gálico, vanílico, *p*-hidroxibenzoico, siríngico y protocatecuico [30]. En la siguiente tabla se presentan algunos ejemplos de polifenoles existentes, según su grupo y estructura química.

**Tabla 3.**

*Ejemplos de polifenoles.*

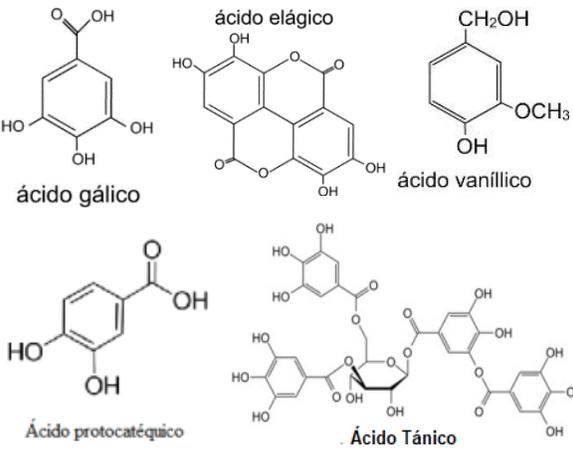
Grupo de Polifenoles	Tipos de polifenoles	Estructuras
<p style="text-align: center;">Ácidos Benzoicos</p>	<p style="text-align: center;">Acido <i>p</i>-hidroxibenzoico                      Ácido gálico                      Ácido vanílico                      Acido tánico                      Ácido elágico                      Ácido protocatéquico</p>	 <p style="text-align: center;">Ácido gálico      ácido elágico      ácido vanílico</p> <p style="text-align: center;">Ácido protocatéquico      Ácido Tánico</p>

Tabla 3. Continuación.

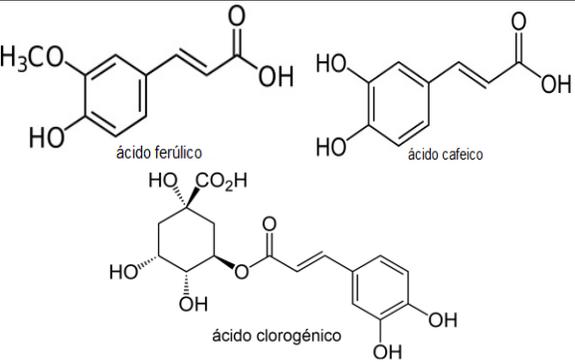
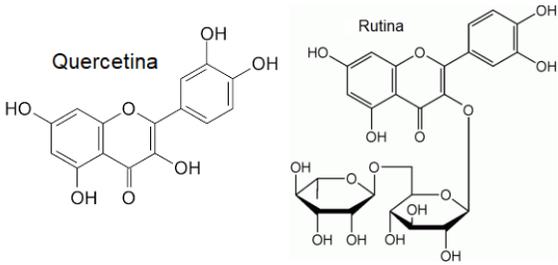
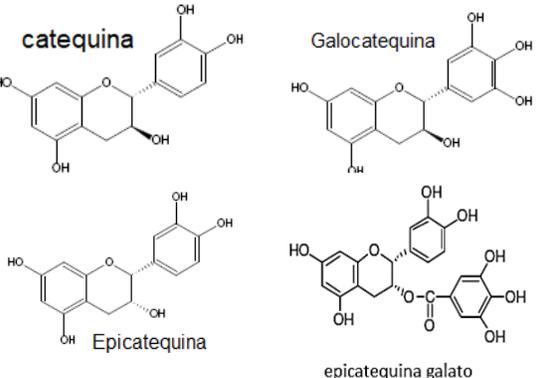
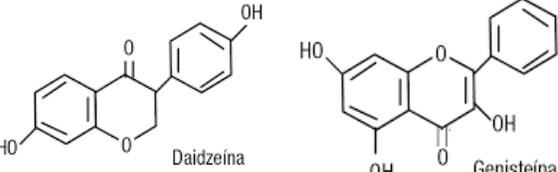
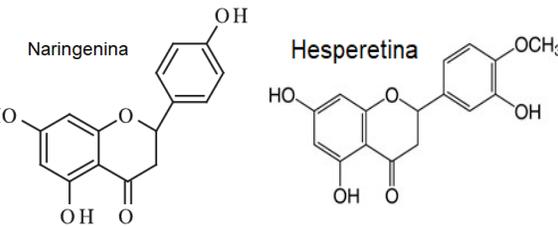
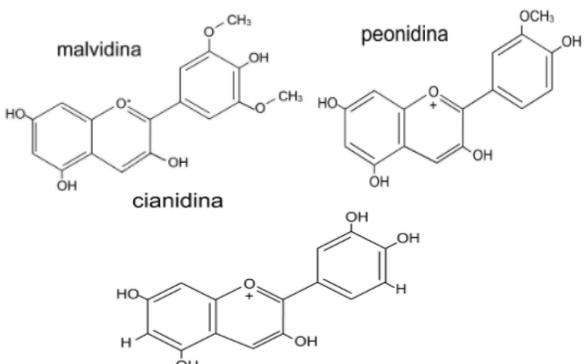
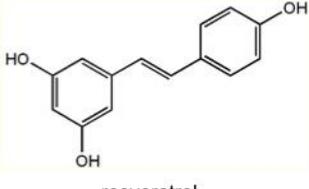
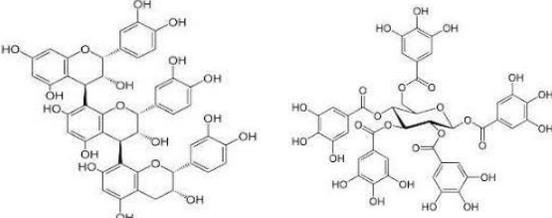
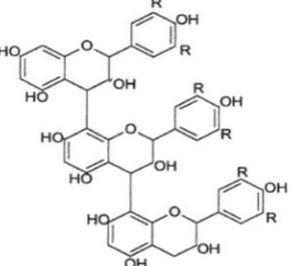
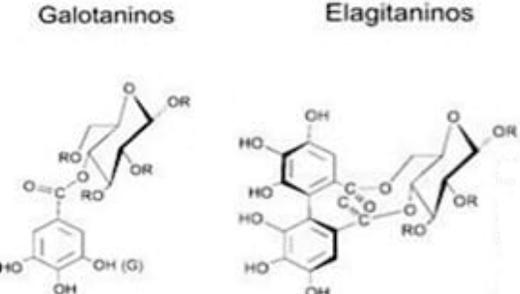
<p>Ácidos Hidroxicinámicos</p>	<p>Ácido clorogénico Ácido cafeico Ácido ferúlico Ácido sináptico</p>	 <p>Chemical structures of hydroxycinnamic acids: ferulic acid (ácido ferúlico), caffeic acid (ácido cafeico), and chlorogenic acid (ácido clorogénico).</p>
<p>Flavonoles</p>	<p>Rutina Quercetina Mircetina Kaemferol</p>	 <p>Chemical structures of flavonols: Quercetin (Quercetina) and Rutin (Rutina).</p>
<p>Flavanoles</p>	<p>Catequina Epicatequina Galocatequina Epicatequina galato Catequina galato Epigalocatequina galato Galocatequina galato</p>	 <p>Chemical structures of flavanols: Catechin (catequina), Epicatechin (Epicatequina), Galocatechin (Galocatequina), and Epigallocatechin gallate (epicatequina galato).</p>
<p>Isoflavonas</p>	<p>Daidzeina Genistina Gliciteína</p>	 <p>Chemical structures of isoflavones: Daidzein (Daidzeina) and Genistein (Genisteina).</p>
<p>Flavanonas</p>	<p>Naringenina Hesperetina Butina Eriodictiol</p>	 <p>Chemical structures of flavanones: Naringenin (Naringenina) and Hesperetin (Hesperetina).</p>

Tabla 3. Continuación.

<p>Antocianidinas</p>	<p>Malvidina Cianidina Peonidina Glucósidos de Antocianidinas</p>	 <p>malvidina      peonidina cianidina</p>
<p>Estilbenos</p>	<p>Resveratrol</p>	 <p>resveratrol</p>
<p>Taninos hidrolizados</p>	<p>Oligómeros de ácidos hidroxicinámicos y benzoicos</p>	
<p>Taninos condensados</p>	<p>Polímeros de catequina Polímeros de epicatequina</p>	
<p>Polifenoles hidrolizables</p>	<p>Galotaninos Elagitaninos Ácidos benzoicos Ácidos hidroxicinámicos</p>	 <p>Galotaninos      Elagitaninos</p>

**Nota.** Clasificación de algunos polifenoles encontrados, modificando algunas imágenes y tipos de polifenoles. Tomado de: S. Arranz, “Compuestos polifenólicos (extraíbles y no extraíbles) en alimentos de la dieta española: metodología para su determinación e identificación. 2010, [En línea]. <https://eprints.ucm.es/id/eprint/11255/1/T32158.pdf>. [Fecha de acceso] 14/01/2021.

### **1.3.3. Métodos para cuantificar polifenoles.**

Actualmente los compuestos polifenólicos han generado un gran interés industrial debido a la diversidad de estructuras (desde las más simples, hasta las más compleja) y a sí mismo a las propiedades bio-fisicoquímicas, los cuales presentan funciones muy importantes en la salud humana previniendo enfermedades degenerativas, cardiovasculares, entre otras. Adicionalmente, al encontrarse de manera biológica en las plantas, frutas y verduras, originan un mayor interés para su obtención a partir de residuos agroindustriales como los subproductos del café.

**1.3.3.a. Cuantificación de polifenoles y fenoles totales.** Estas mediciones son empleadas para determinar el número de hidroxilos fenólicos y polifenólicos que se encuentran en los extractos. Para ello se utilizan dos técnicas las cuales se fundamentan en reacciones de óxido reducción.

**1.3.3.a.i. Método de Folin- Ciocalteu.** Este ensayo se emplea actualmente; consta en el uso del reactivo Folin-Ciocalteu que reacciona con cualquier compuesto fenólicos que se encuentre presente en el extracto , dicho reactivo contiene molibdato y tungstato sódico, en donde se crea el “ión fenolato el cual es oxidado (en medio alcalino) mientras que el reactivo fosfotúngstico-molíb dico es reducido, formando un complejo color azul (cromóforo)” [31]; los resultados se expresan en contenido equivalente de ácido tánico o gálico; realizando a su vez la respectiva curva de calibración con soluciones puras de los ácidos anteriormente mencionado.

**1.3.3.a.ii. Método de Price y Butler.** Consta básicamente en que el “ión fenolato es oxidado mientras que el ion férrico ( $Fe^{3+}$ ) es reducido a ión ferroso ( $Fe^{2+}$ ) que se detecta mediante la formación de un complejo azul con el reactivo ferricianuro de potasio. El complejo formado de se conoce con el nombre de azul de Prusia”[31].

**1.3.3.b. Cuantificación de taninos.** Los taninos son compuestos que tiene la capacidad de crear moléculas más complejas al unirse con sustancias como las proteínas, dicho esto se presentan métodos para cuantificar los taninos condensados e hidrolizables.

**1.3.3.b.i. Cuantificación de taninos condensados (Proantocianidinas).** Este grupo de compuestos tiende a formar moléculas oligomérica o poliméricas en diferentes tamaños, también crean reacciones de condensación con formaldehidos tanto en medio ácido como en alcalino[32]. Por cual, actualmente se emplea el *método de Stiasny*, el cual a partir de una determinación gravimétrica en reacción con extracto tánico y formaldehido generando una precipitación de la fracción tánica. El resultado final es expresado en cantidad de precipitación con formaldehído [33].

**1.3.3.b.ii. Cuantificación de taninos hidrolizables.** A diferencias de los taninos condensados, este tipo de compuesto son susceptibles a hidrolisis con facilidad en los ácidos, bases y enzimas, permitiendo así la liberación de los componentes. Se emplea el método de Lowenthal, el cual consiste en la “oxidación del tanino con el permanganato de potasio (KMnO<sub>4</sub>) en presencia del añil sulfonado (colorante índigo), sirviendo éste como indicador y como regulador de la reacción. Como el ácido gálico y otros compuestos que están presentes se oxidan del mismo modo que el tanino, es preciso realizar una segunda valoración después de separar el tanino, calculando éste por diferencia. Para efectuar dicha operación puede usarse el polvo de piel, o se puede añadir una solución recién preparada de gelatina” [34].

**1.3.3.c. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).** El método HPLC permite la cuantificación de polifenoles como flavonoides, taninos y ácidos fenólicos; consisten la separación y análisis de componentes químicos que se encuentran previamente mezclados [35]. Principalmente se inicia conociendo la solubilidad del compuesto en interacción con la fase móvil, seguido de un pretratamiento de las muestras por centrifugación, filtración o homogenización. Finalmente se detectan a través de una lectura en el equipo, el cual genera la separación de los analitos en la fase estacionaria para identificar por medio de detectores espectrométricos los diferentes compuestos según la sensibilidad de la luz UV absorbida [36].

#### **1.4. Tratamientos empleados para los residuos**

Para una mejor gestión de los subproductos del procesamiento húmedo, se emplean diferentes pre o tratamientos en donde se caracteriza de mejor manera el uso de estos residuos. Por lo cual, se encuentran tratamientos físicos, químicos y biológicos.

### 1.4.1. Tratamientos Físicos

Estos son los encargados de realizar una eliminación o disminución de la carga orgánica e inorgánica proveniente de diversos procesos ya sea en estado sólido o líquido. “Se emplean operaciones de separación, bien por procedimientos mecánicos forzados, como por ejemplo las filtraciones o centrifugación, por procedimientos hidráulicos como puede ser la decantación. Estos tratamientos no modifican la constitución de los componentes, sino la forma de presentación y pueden utilizarse como técnicas separadas o como complemento a los métodos químicos o biológicos”. Algunos procesos que se emplean actualmente son: centrifugación, sedimentación, evaporación, precipitación, destilación, filtración, cristalización, entre otros. [37]

**Tabla 4.**

*Algunos tratamientos físicos.*

Tratamientos Físicos	
Centrifugación	Filtración
Sedimentación	Cristalización
Precipitación	Decantación

**Nota:** Representación de algunos proceso físico empleados en los tratamientos de corrientes contaminantes por procesos agroindustriales.

### 1.4.2. Tratamientos Químicos

Los tratamientos químicos son operaciones en donde se adicionan diversos compuestos químicos el cual genera distintas reacciones, las cuales provocan “modificaciones en las estructuras moleculares de los componentes peligrosos de los residuos, transformando estos componentes en otros generalmente menos contaminantes. En algunos casos esta transformación es irreversible, pero en otros pueden provocar el efecto contrario en donde las características de peligrosidad se alteran en condiciones externas” [37]. A continuación, se menciona algunos procesos que se utilizan como: hidrólisis, neutralización, catálisis, reducción química, oxidación, electrolisis entre otras; hoy en día se emplean combinaciones entre los tratamientos físicos y biológicos para disminuir o en algunos casos volver a utilizar los residuos.

**Tabla 5.**

*Tratamientos químicos.*

<b>Tratamientos Químicos</b>	
Hidrólisis	Neutralización
Floculación	Catálisis
Oxidación	Electrólisis

**Nota:** Ejemplo de algunos tratamientos químicos utilizados para la reducción de contaminantes de residuos agroindustriales.

### **1.4.3. Tratamientos Biológicos**

Actualmente existe una gran cantidad de agentes contaminantes que afectan la calidad de los recursos naturales, dado a esto se realizan diferentes procesos u operaciones en donde se ven implicados la utilización de agentes biológicos o microorganismos que permiten la modificación de ciertas características físicas, químicas y biológicas de los residuos o sustancias peligrosas que implican cambios en los ecosistemas.

Estos tipos de tratamientos no son convencionales y crean un cambio al uso de sustancias químicas que en ocasiones suelen ser tóxicas y complican los procesos. Actualmente el impulso de la química verde, crea un interés de este tipo debido a que la degradación por microorganismos no solo implica la reducción de compuestos contaminantes, sino también en algunos casos se conservan compuestos que son aprovechables para otros procesos y reducen costos de operación [38].

En los tratamientos biológicos están presentes diferentes tipos de microorganismos entre bacterias, hongos, protozoos, algas, nematodos y rotíferos. Recientemente se estudian diferentes tipos de tratamientos en donde se utiliza en mayor proporción bacterias, hongos o levaduras para el aprovechamiento de los residuos agroindustriales. Un punto clave para el mejoramiento de estos tratamientos es el estudio de la complejidad que presentan las estructuras de los residuos, por lo que genera un desafío para la optimización de los diferentes tratamientos [38].

**1.4.3.a. Tratamiento por hongos.** Los hongos son los microorganismos mayormente empleados en el tratamiento de aguas residuales debido a su gran capacidad de producir enzimas degradativas, muchas de ellas de interés industrial. Hongos que se consideran

importantes son los generadores de podredumbre en los vegetales, los cuales son capaces de degradar diferentes sustratos. Existen varios tipos de podredumbre y en cada una de ellas se encuentran implicados hongos diferentes. En la podredumbre blanca se encuentran *Pleurotus ostreatus*, los cuales son degradadores de lignina por ligninasas, aunque pueden producir otras enzimas como lacasas y manganeso peroxidadas. Los hongos de la podredumbre marrón como *Phytophthora* son degradadores de polisacáridos. Por último, los hongos de la podredumbre blanda, los cuales son *Chaetomium globosporum*, degradan tanto la lignina como los polisacáridos [38] .

Los hongos filamentosos lignolíticos como *Phanerochaete chrysosporium* presentan múltiples propiedades que los convierten en microorganismos idóneos para realizar tratamiento de aguas contaminadas con metales pesados como el cromo. Dichas propiedades corresponden a los procesos metabólicos y no metabólicos por los cuales los hongos pueden fijar compuestos como bioacumulación y reacciones enzimáticas de óxido-reducción, bioadsorción y quimiosorción. [39]

Para realizar tratamientos biológicos con hongos, se deben evaluar las condiciones de crecimiento óptimo para obtener el máximo rendimiento en producción de enzimas. Condiciones como el pH, humedad, temperatura, enriquecimiento con fuentes de nitrógeno, concentración del inóculo, biomasa, entre otras que deben ser monitoreadas constantemente y seleccionar aquellas en donde se obtenga un mayor rendimiento.

**1.4.3.b. Tratamiento por levaduras.** A nivel industrial las levaduras son microorganismos de importancia por su producción enzimática y por las diferentes rutas metabólicas que se pueden aprovechar para obtener diferentes compuestos. Las levaduras generalmente se implican en procesos fermentativos en donde se aprovechan residuos ricos en azúcares para producción de bioetanol. Es aquí donde los residuos agroindustriales dejan de ser desechos, para convertirse en una fuente provechosa de azúcares y compuestos nitrogenados que favorecen el crecimiento de las levaduras. Una de las levaduras que más ha sobresalido debido a su versatilidad y fácil crecimiento es *Saccharomyces cerevisiae*, siendo la más estudiada para ser aprovechada en procesos fermentativos, los cuales consisten en el desdoblamiento anaerobio de los azúcares para

producir bioetanol. Otra levadura de interés es *Candida guilliermondii*, asociada con procesos de obtención del xilitol [38].

**1.4.3.c. Tratamiento por Bacterias.** Las bacterias son microorganismos ideales para tratamientos biológicos, especialmente cuando se quiere un mayor crecimiento de los inóculos. Estas crecen más rápido que los hongos filamentosos y también son buenas productoras de diferentes compuestos de interés, es por ello que se pueden incluir en los tratamientos biológicos junto con los hongos filamentosos, debido a que los hongos son mejores productores de enzimas extracelulares y es mayor su actividad enzimática degradativa de compuestos como la lignina.

El desempeño bacteriano es mejor si se realizan pretratamientos adecuados, como los físicos, para ayudar a degradar la lignina, la cual puede inhibir en parte la actividad de las enzimas bacterianas, además de purificarlas para realizar digestión enzimática exclusiva, lo cual tiene como ventaja aumentar el rendimiento del tratamiento. Las bacterias mayormente empleadas en tratamientos biológicos son *Bacillus sp.*, *Sphingomonas sp.*, *Cellulomonas* y *Zymomonas spp* [38].

#### **1.4.4. Mecanismos para el tratamiento biológico**

La fermentaciones son los procesos biotecnológicos más importantes para la obtención de la biomasa y así mismo de los diversos compuestos de interés, usualmente se emplean microorganismos como las bacterias y los hongos en diferentes sustratos biológicos, que aprovechan la actividad metabólica con el objetivo de transformar la materia prima [40].

**1.4.4 a. Fermentación sumergida.** Las fermentaciones en estado líquido (FS) son aquellas que se realizan a partir de una solución, eso quiere decir que posee el mismo contenido de agua y sustrato sólido en el proceso, normalmente se utilizan en estado líquido o que sean solubles en agua; se encuentran en forma de alcohol, aceite o caldos nutritivos para favorecer el crecimiento de los microorganismos [40]. Es uno de los tipos de fermentación más utilizada debido a que tiene un manejo sencillo en donde se pueden controlar las variables que se llevan a cabo en el proceso. Los microorganismos presentes en estas fermentaciones se desarrollan libres en el medio de cultivo, en donde

se presentan las fases de crecimiento microbiano: latencia, crecimiento, estacionaria y muerte. Finalmente, requieren unas etapas de extracción y concentración para obtener las diferentes moléculas de los compuestos bioactivos presentes. [41]

**1.4.4.b. Fermentación en estado sólido.** La fermentación en estado sólido (FSS) son aquellas que se realizan en un medio donde presentan baja humedad y existe una ausencia de agua. En estas se utilizan sustratos naturales que ayudan como soporte y fuente de nutrientes para el desarrollo de los microorganismos. Dada la carencia de agua solo se emplea un grupo selecto de agentes biológicos como hongos y levaduras que tengan la capacidad de crecer, es necesario realizar una inoculación grande para obtener los productos concentrados [40].

«Las ventajas más importantes asociadas con la fermentación en estado sólido, en comparación con la sumergida, son que los medios de cultivo necesarios no son tan complejos, los sustratos se pueden usar sin la necesidad de ser modificados, el producto de interés no se diluye (lo que facilita la purificación posterior); el inóculo es a menudo la micro flora natural para aquellos sustratos, esporas o células, el contenido de humedad relativamente bajo y el inóculo más alto utilizado reducen la posibilidad de contaminación microbiana extraña, la cantidad de efluentes generados es menor y las enzimas apenas se ven afectadas por la inducción o represión catabólica, además del menor costo junto con el uso de sustratos menos costosos, por ejemplo, desechos agrícolas, con la ventaja medioambiental de su mejora » [42].

#### **1.4.5. Ventajas y desventajas de los tratamientos biológicos.**

Debido al creciente interés por nuevas alternativas para la utilización de residuos agroindustriales, se considera uno de los procesos en donde se llega a tener una gestión adecuada para la conversión de la biomasa generando una economía circular sostenible en donde se minimizan los compuestos residuales, es ecológico, no genera residuos contaminantes y por ello se pueden aprovechar al máximo. Debido a que se emplean agentes biológicos se obtienen diferentes mecanismos de reacción, proporcionando una amplia gama para emplearse en diversos procesos industriales. Las ventajas de este tipo de tratamientos es que son amigables con el medio ambiente, las condiciones de

operación varían según los microorganismos, si se realiza un uso adecuado no se produce inhibición en los diferentes procesos y no requieren una demanda energética alta, por lo que se reducen costos en esta. Aunque son muy beneficios también generan ciertas desventajas a la hora de utilizarse, las velocidades de las reacciones son lentas y son sensibles a las entradas de los procesos, por lo que es necesario conocer a fondo las condiciones óptimas para la obtención de los diferentes productos de interés. [38]

**Tabla 6.**

*Ventajas y desventajas de los tratamientos.*

Tratamientos	Ventajas	Desventajas
Biológicos	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Amigables con el medio ambiente.</li> <li>✓ Disminuyen la contaminación ambiental.</li> <li>✓ No generan residuos peligrosos.</li> <li>✓ Bajos requerimientos energéticos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Tasa de producción lenta.</li> <li>✓ Optimización de los tiempos de reacción.</li> <li>✓ Son sensibles a los cambios en la operación.</li> <li>✓ Solo se pueden manejar en tiempos y condiciones específicas para obtener buenos productos.</li> </ul>
Químicos	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Rápida reacción.</li> <li>✓ Alta capacidad de tratamiento.</li> <li>✓ Eficiente proceso.</li> <li>✓ Alta eliminación de residuos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ No son amigables con el medio ambiente.</li> <li>✓ Produce residuos tóxicos.</li> <li>✓ Costosos.</li> <li>✓ Perjudiciales para la salud.</li> </ul>
Físicos	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Eficiente proceso.</li> <li>✓ No requieren químicos.</li> <li>✓ Alta calidad de los efluentes tratados.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Utiliza equipos costosos.</li> <li>✓ Limitada aplicación.</li> <li>✓ Formación de algunos subproductos.</li> </ul>

**Nota:** Comparación de ventajas y desventaja de los tratamientos químicos, físicos y biológicos utilizados para la mitigación de residuos agroindustriales.

## **2. COMPOSICIÓN DE LA PULPA DE CAFÉ**

En Colombia la producción de café arábico se ha convertido en el transcurso de los años en una de las industrias más importantes del país, generando a su vez residuos agroindustriales en gran proporción de los cuales se encuentran el mucilago, el pergamino, la borra, la pulpa entre otros. De los subproductos generados, la pulpa de café corresponde al 40% de la cereza de café residual, por lo cual es la mayor proporción dentro de los desechos de esta industria.

De lo anteriormente mencionado se han estudiado diferentes maneras que busquen aprovechar este tipo de residuos, ya sea con fin de tratamientos biológicos o aprovechamientos industriales. Por esta razón, en este capítulo se mostrará una revisión bibliográfica sobre la composición y la cantidad de compuestos orgánicos presentes en la pulpa de café residual (especie *Coffea arábica*) como polifenoles, azúcares, proteínas, fenoles entre otras.

### **2.1. Metodología**

#### **2.1.1. Revisión de la literatura**

Se realizó una revisión sistemática de la literatura en las bases de datos ScienceDirect, SpringerLink, Scopus y Google académico con el fin de encontrar información de los últimos diez años acerca del contenido de polifenoles presentes en la pulpa de café residual. Como criterios de selección se tuvieron en cuenta documentos en inglés y español desde el 2010 en adelante. Se seleccionaron ensayos controlados y revisiones en donde se reportaba la cantidad de polifenoles presente en la pulpa de café y su método de extracción. Como criterios de exclusión se estableció que no se tendrían en cuenta artículos en donde no se evalúen la pulpa de café de la especie *Coffea arábica* y compuestos polifenólicos en conjunto con otros compuestos químicos.

#### **2.1.2. Palabras Clave**

Los términos empleados para la revisión de la literatura fueron “pulpa de café” y “polifenoles”, ambos términos son libres y se buscaron tanto en español como en inglés. Esto se determina de esta forma debido a que al utilizar las palabras claves se genera una búsqueda exacta de la información necesaria, evitando documentos que no estén relacionados con la búsqueda.

### 2.1.3. Estrategias de búsqueda

Se empleó la siguiente estrategia de búsqueda en cada base de datos filtrando por tiempo (artículos de los últimos 10 años) y tipo de documento (artículo de investigación, revisión, tesis, entre otros); a continuación, se muestran los resultados obtenidos de la investigación realizada.

**Tabla 7.**

*Estrategia de búsqueda.*

Ecuaciones de Búsqueda	Número de resultados			
	<i>Google Académico</i>	<i>Scopus</i>	<i>Springer Link</i>	<i>Science Direct</i>
"Coffee pulp" And "polyphenols"	851	238	67	122
"Pulpa de café" Y "polifenoles"	257	4	0	0
<b>Total</b>	1108	242	67	122

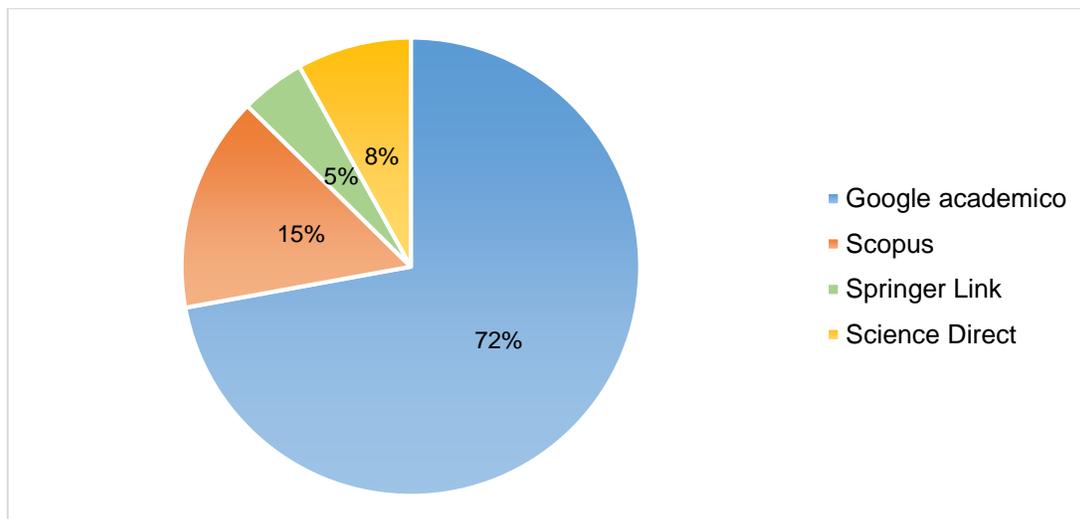
**Nota:** Palabras claves empleadas para la búsqueda en las cuatro bases de datos con el respectivo número de resultados.

Como se puede observar en la tabla 7, las bases de datos arrojaron los respectivos documentos que se encuentran en función a las ecuaciones de búsqueda a nivel mundial, mostrando resultados variados para realizar los respectivos análisis que llevaran a un adecuado desarrollo del capítulo. Principalmente se efectuó una revisión por título, excluyendo aquellos documentos que no mencionaban la pulpa de café y los polifenoles. Adicionalmente, se descartaron aquellos artículos que se encontraban repetidos y que no tenían relación con la temática de la investigación, la información final se evidencia en la figura 9.

En la figura 6 se muestra una comparación entre los datos obtenidos anteriormente, representados en porcentajes, con el fin de evaluar o determinar qué base de datos proporciona mayor información, encontrando que, Google académico administra el 72% con respecto a Scopus 5%, Springer Link 5% y Science direct 8% respectivamente. Además, se evidencia que la pulpa de café en los últimos años ha presentado un creciente interés para ser investigada y aminorar los efectos negativos provocados por la mala disposición de esta en fuentes naturales ya sea en agua o suelo.

**Figura 6.**

*Gráfica circular correspondiente a las bases de datos utilizadas.*



**Nota:** Resultados representativos para identificar en que base de datos se encuentra mayor información.

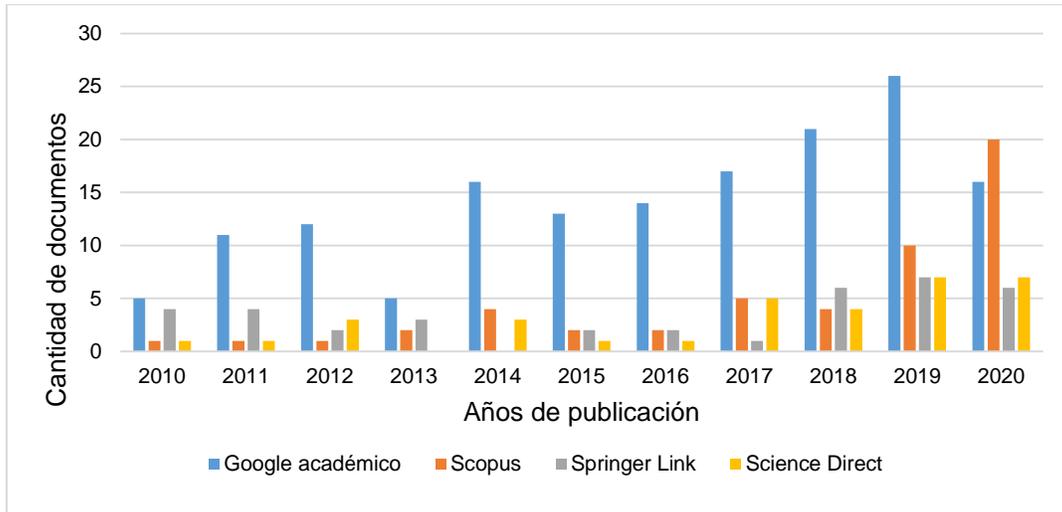
Cabe resaltar que la revisión documental fue realizada fundamentalmente en investigación científica, basada mayormente en artículos investigativos y algunos libros, pero, no se descartan documentos como tesis o ensayos, dado que también aportan información de alto interés frente a el tema investigado.

Los documentos acerca de la pulpa de café se encuentran limitados, por lo cual en la figura 7, se muestra la tendencia de los documentos publicados en los últimos 10 años con respecto a la cantidad de documento ya filtrados con las exclusiones mencionadas anteriormente. Se evidencia que, el estudio de la pulpa de café y del contenido de polifenoles ha incrementado.

Adicionalmente, a lo largo de los años Google académico posee mayor contenido en publicación con respecto a las bases de datos de Scopus, Springer link y Science direct. Y esto puede darse ya que google Académico no presenta un control en la calidad de la información encontrada, a diferencia de Scopus que provee artículos científicos revisados por pares y publicados en revistas como Springer Link y Science direct. Sin embargo, la información encontrada que se muestra en el grafico fue debidamente seleccionada para aportar mayor documentación científicas. Por lo cual, las publicaciones con el mayor pico fueron del 2017 al 2019 en Google académico, sin embargo, para el 2020 disminuyo con respecto a la base de datos de scopus. De igual forma se puede resaltar que esta base de datos duplico sus contenidos, superando las demás fuentes de información.

**Figura 7.**

*Representación gráfica de los años de publicación vs cantidad de documentos.*

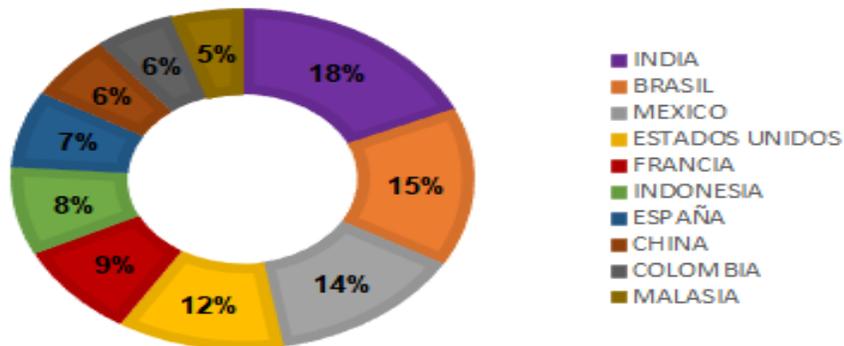


**Nota:** Resultados representativos para identificar en que base de datos se encuentra mayor información.

A partir de la base de datos de Scopus se muestra datos para saber qué países cuentan con mayor influencia en la publicación referentes a este tema, por lo cual encontramos que en primer lugar aparece India con alrededor de 33 documentos, seguido de Brasil con 27 y en tercer lugar México con 25 documentos. Colombia al ser un país caficultor cuenta con 10 publicaciones sin embargo es necesarios seguir realizando investigaciones para fortalecer la parte científica y apoyo a los caficultores del país en el mejor uso de la pulpa de café.

**Figura 8.**

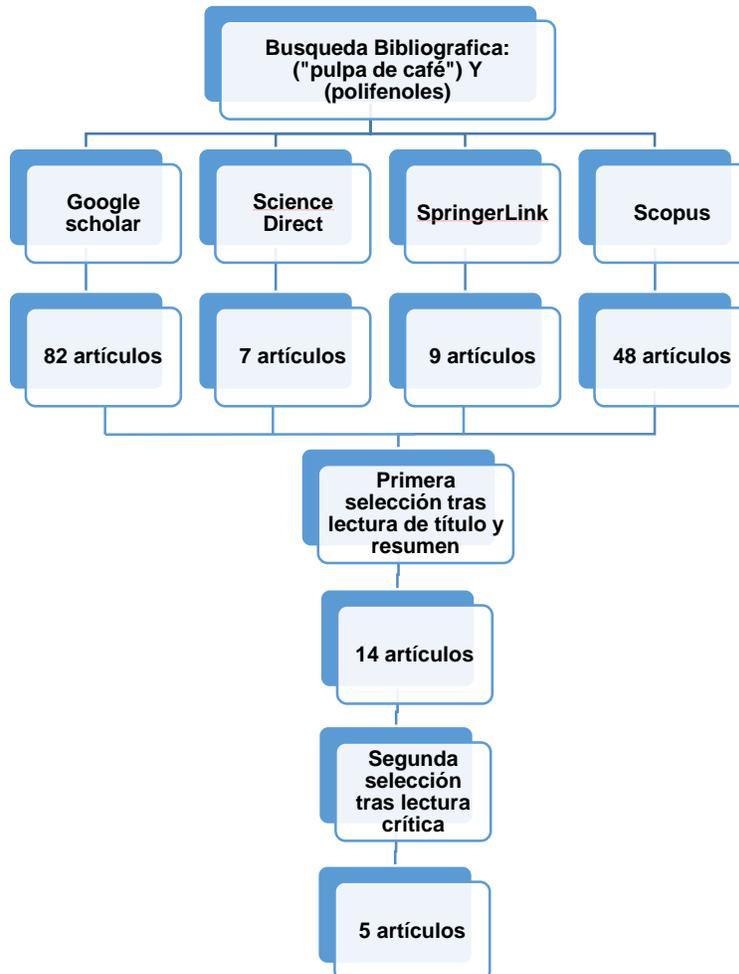
*Grafica de los países con mayor documentación.*



**Nota.** Imagen ilustrativa de la información acerca de los países más importantes en brindar documentos científicos.

**Figura 9.**

*Flujograma de información capítulo 2.*

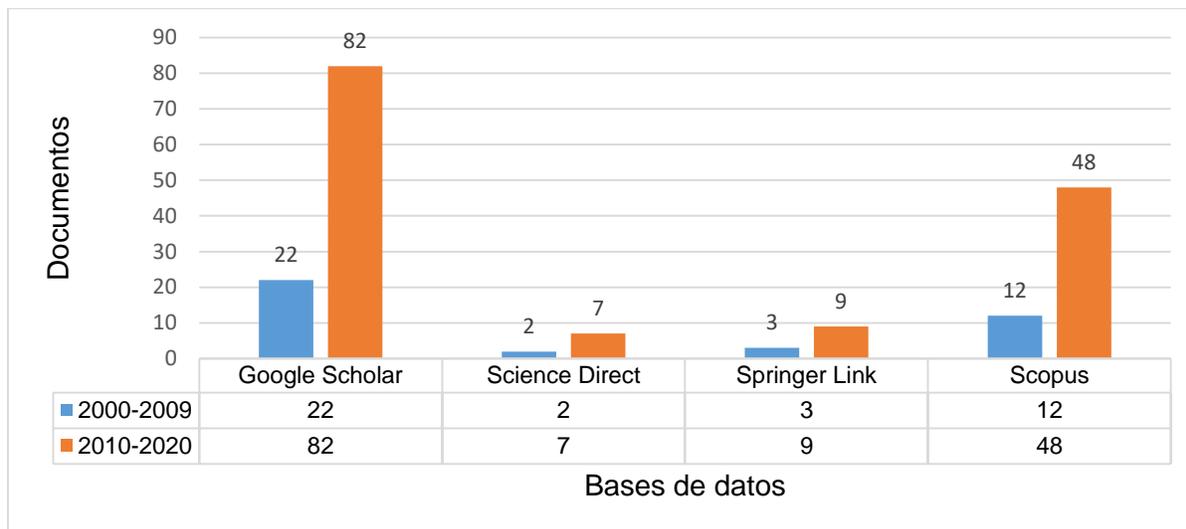


**Nota.** Imagen ilustrativa de la búsqueda de datos para la composición de la pulpa de café.

En la figura 9 se demuestra la revisión bibliográfica realizada en cada una de las bases de datos mencionadas anteriormente, con la respectiva cantidad de artículos, tesis, monografías entre otros. Además de ello se realiza una primera selección, en donde solo se tuvieron en cuenta los títulos y el resumen para descartar la información que no cumplía con el objetivo del capítulo, de este proceso se obtuvo como resultado 14 artículos. Finalmente, en otro filtro se seleccionó a partir de la lectura crítica, en donde se encontrará información que describiera el proceso del contenido de polifenoles de la pulpa de café, de esta revisión, se destacaron 5 documentos importantes. El procedimiento antes descrito le dio el cuerpo al capítulo en cuestión.

**Figura 10.**

*Comparación entre las cuatro bases de datos.*



**Nota.** Cantidad de documentos encontrados de las cuatro bases de datos en intervalos de tiempos distintos.

Hace veinte años el concepto de bioeconomía no era contemplado en la política de muchos países y dado el creciente desarrollo industrial, el consumo poblacional representó un problema económico, social y ambiental. Sin embargo, actualmente la organización de la Naciones Unidas (ONU), pone en marcha los objetivos de desarrollo sostenible para mitigar, disminuir los impactos negativos que se han generado hasta la fecha [43].

Dicho esto, el término de desarrollo sostenible y economía circular empieza por la implementación de material orgánico de origen animal y vegetal para la producción de nuevos biocompuestos dando un valor agregado y satisfaciendo ciertas necesidades humanas. Por ello, se evidencia en la figura 10, el comportamiento de los últimos 20 años en dos intervalos de tiempo en función a las publicaciones encontradas sobre la composición de pulpa de café residual.

Se muestra que en el intervalo de los años 2000-2009 la cantidad de documentos presentadas fueron bajas, sin embargo, la base de datos con un mejor comportamiento fue google scholar, debido a que cuenta con 22 documentos del tema de estudio, mientras que science direct cuenta con 2 artículos, springer link con 3 y scopus con 12

respectivamente. Para el intervalo del 2010-2020, se demuestra un mayor crecimiento en la información presente en las bases de datos, en donde, google scholar aumento a 82, science direct a 7, springer link a 9 y scopus a 48 documentos. Observando que estas cumplían con la información necesaria sobre la pulpa de café y los polifenoles. Por lo cual este intervalo (2010-2020) permite obtener información actual con nuevas metodologías y técnicas en donde los subproductos del café generan un mayor interés.

## **2.2. Compuestos químicos presentes en la pulpa de café residual**

La producción de café es uno de los sectores agroindustriales con mayor relevancia, los productos obtenidos como las bebidas aumentan en su consumo. La cereza de café posee compuestos químicos importantes que generan cada día un interés para ser utilizados y aprovechados para la obtención de biocompuestos los cuales ayudan en la prevención de enfermedades. Actualmente se utilizan dos tipos de especies de café las cuales: Coffea arábica o café arábico producidos en una proporción de 2/3 y de la especie Coffea Canephora o café robusto con 1/3 respectivamente a nivel mundial [44]. En el presente documento únicamente se tendrán en cuenta la pulpa de café de la especie arábica.

Los subproductos del café presentan diferentes tipos de compuestos químicos, de los cuales algunos pueden considerarse como un valor agregado en la utilización de estos residuos, debido a que se emplean como aditivos alimenticios, sustrato para la producción de pigmentos microbianos, bioetanol, ácidos orgánicos, entre otros. Uno de los compuestos presentes en mayor proporción en la pulpa de café es la celulosa en aproximadamente un 63%. La hemicelulosa se encuentra en un 11,5% y los polifenoles totales se encuentran en un 1,5% [45]. Ver la siguiente tabla.

**Tabla 8.***Componentes de la pulpa de café.*

COMPUESTOS	%
Proteína	11,5 (9,5- 13,5)
Sustancias pépticas	6,5 (5,5 – 7,5)
Azúcares totales	14,4 (13,5 – 15,3)
Celulosa	63,0 (60,5 – 65,5)
Hemicelulosa	11,5 (9,5 - 13,5)
Lignina	17,5 (15,3 - 19,7)
Fibras totales	60,5 (57,3 – 63,4)
Ácido clorogénico	2,4 (1,4 – 3,4)
Polifenoles totales	1,5 (0 – 3)
Cafeína	1,5 (0,5 – 2,5)

**Nota.** Composición química encontrada, en donde se modificó el orden de los compuestos contemplando únicamente los de la pulpa de café. Tomado de: M. Dias, “Aproveitamento de resíduos do processamento de café para produção de carotenoides por leveduras e bactérias,” Universidad federal de Lavras, 2016. [En línea] <http://www.sbicafe.ufv.br:80/handle/123456789/8444> [Fecha de acceso] 03/09/2020.

En un estudio de Salinas y colaboradores [46] , determinaron la composición de la pulpa de café antes y después de su ensilaje con melaza, con el fin de evaluar si esta conservaba su actividad antioxidante para fines de alimentación animal. En las muestras no ensiladas se realizó determinación de materia seca, contenido de cenizas, contenido de proteína cruda, lignina y fibra (neutra y de detergente ácido), todas estas determinaciones se hicieron en pulpa de café deshidratada a 55°C en horno por tres días.

Otra parte de la muestra se lavó en agua destilada y se preparó en una proporción 4:1 con ácido meta fosfórico, con el fin de determinar ácidos grasos volátiles y ácido láctico. Otras determinaciones realizadas fueron las de los compuestos antioxidantes y cafeína, por lo que se ejecutaron curvas de calibración para los compuestos ácido gálico, clorogénico, ferúlico, p-cumárico, cafeico vanílico, siríngico, 2,5-hidroxibenzoico, p-hidroxibenzoico y 2,3-hidroxibenzoico. Por ello realizaron una extracción en donde se

utilizaron 0,5g de pulpa, se lavó con metanol al 50% y se acidificó con HCL 2N a pH de 2, seguidamente se llevó a agitación por 1 hora a 37°C, para luego ser sometido a centrifugación (3000 rpm por 15 minutos a 4°C).

El precipitado se mezcló con acetona al 70% en agua. Tras una nueva centrifugación, el nuevo sobrenadante se mezcló con el anterior, con el objetivo de determinar la actividad antioxidante por medio de la técnica de poder de reducción ferrosa (FRAP), empleando como patrón al compuesto ácido 6-hidroxi-2-5-7-8-tetrametil-croman-2-carboxílico o Trolox [46]. Los resultados se aprecian en la siguiente tabla.

**Tabla 9.**

*Determinación de sustancias presentes en la pulpa de café.*

Compuestos	g kg <sup>-1</sup> DM	Compuestos	mg g <sup>-1</sup> DM
Ceniza	145,60	Cafeína	5,72
Proteína cruda	98,60	Ácido cafeico	16,49
Lignina	122,92	Acido gálico	2,88
Fibra neutra	414,60	Ácido clorogénico	62,12
Fibra de detergente ácido	383,90	Actividad antioxidante FRAP (µmol trolox g <sup>-1</sup> MS)	215,66

**Nota.** Compuestos obtenidos de la pulpa de café residual antes del ensilaje, en el cual, a información se expresó en una sola tabla. Tomado de: T. Salinas-Rios, *et al.* "Changes in composition, antioxidant content, and antioxidant capacity of coffee pulp during the ensiling process," Rev. Bras. Zootec., vol. 43, n°. 9, pp. 492–498, 2014. [En línea] doi: 10.1590/S1516-35982014000900006 [Fecha de acceso] 16/11/2020.

Murthy y Madhava [47] realizaron un estudio en donde buscaban recuperar los compuestos fenólicos y la fibra dietética de diferentes subproductos del café incluyendo la pulpa, con el fin de evaluar la actividad antioxidante de los mismos. Las muestras se prepararon para ser procesadas de tres formas: No tratadas, tratadas con vapor (15 lb de presión a 121°C por 30 minutos) y tratadas con enzima (vicozima al 1 % por una hora). Se dejaron secar al aire libre y se sometieron a un proceso de extracción Soxhlet con isopropanol y agua. A cada uno de los extractos obtenidos de cada subproducto se le denominó conservas. Las condiciones para la extracción Soxhlet fueron las siguientes:

- Tamaño de muestra: Se prepararon al 1:10 p/v a partir de 100g de cada subproducto de café (Pulpa, cascara de cereza, pergamino, piel plateada y desechos usados) con disolvente.
- Disolvente: Mezcla de isopropanol y agua al 60:40 v/v a temperatura ambiente ( $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ ).
- Rota vapor: Temperatura de  $50^{\circ}\text{C}$  a una presión de 40 milibares.
- Almacenamiento de las conservas obtenidas: Refrigeración a  $4^{\circ}\text{C}$ .

Los concentrados se emplearon para purificar los diferentes compuestos de interés. Para la purificación del ácido clorogénico primero se precipitaron las proteínas empleando sulfato de amonio en una concentración de 20g / L de agua, luego, para aumentar la solubilidad del ácido clorogénico en acetato de etilo, se añadió ácido fosfórico al 4%. Este paso fue necesario porque posteriormente el extracto fue lavado con acetato de etilo, para luego destilarse y dejarse secar al aire libre. Previamente al lavado, se eliminaron compuestos como la cafeína y la cera empleando cloroformo. La cuantificación del ácido clorogénico se realizó por espectrofotometría UV, las lecturas se realizaron a 325 nm tomando como referencia una curva de calibración. Los resultados del contenido de ácido clorogénico presente en la pulpa de café mostraron que este fue del  $10,7\pm 0,8\%$  para la pulpa no tratada, de  $11,8\pm 0,9\%$  para la pulpa tratada con vapor y  $12,8\pm 0,6\%$  para la pulpa tratada con enzima.

La cuantificación de polifenoles totales se realizó por el método de Folin- Ciocalteou, para el cual, los resultados se expresan en equivalentes de ácido gálico (% p/p GA). En la pulpa de café se encontró que el contenido de polifenoles fue de  $1,48\pm 0,9$  donde se puede observar que presenta mayor contenido de polifenoles con respecto a los demás subproductos como la piel de cereza ( $1,22\pm 0,5$ ), la piel plateada ( $1,32\pm 0,9$ ) y los residuos gastados ( $1,02\pm 0,9$ ). Las conservas que fueron purificadas con enzima mostraron un mayor rendimiento, el contenido de polifenoles para la pulpa de café fue de  $22,19\pm 0,63\mu\text{g/ml}$ , seguido de los residuos gastados ( $22\pm 0,2\mu\text{g/ml}$ ), cáscara de cereza ( $21,17\pm 0,25\mu\text{g/ml}$ ) y la piel plateada ( $20,12\pm 0,1\mu\text{g/ml}$ ) [47]. Ordoñez y colaboradores [48] evaluaron el contenido de polifenoles de la cáscara y semillas de residuos de cacao (*Theobroma cacao L.*) Uvas y diferentes especies de aceitunas empleando también la

técnica de Folin- Ciocalteou. Se encontró que para el cacao el contenido de polifenoles fue de  $1,78 \pm 0,13$ , para las uvas fue de  $3,55 \pm 0,15$  y para la piel de aceituna morada fue de  $2,25 \pm 0,16$ . El valor para la cascara de cacao es relativamente cercano a los encontrados por Murthy y Madhava en la piel de la cereza de café ( $1,22 \pm 0,5$ ) [47].

En el estudio también se separaron los compuestos fenólicos individualmente, proceso que se realizó por el método de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC). En este análisis demostraron que el principal componente de los extractos diluidos en isopropanol y agua, fue el ácido clorogénico en una proporción del 10 al 23%.

Adicionalmente, la determinación de la fibra soluble, fibra insoluble y fibra total se realizó por los métodos gravimétrico y enzimático. Por otro lado, la actividad antioxidante de la fibra extraída y de las conservas se midió empleando el método DDPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo), donde se empleó al catión radical ABTS (2,2'-azino-bis- (3-etil benzotiazolin-6- sulfonato de amonio)) y se empleó como estándar una solución de trolox, por lo que la actividad antioxidante fue expresada en equivalente de trolox por cada 100g de producto. La fibra dietética son polisacáridos constituidos por celulosa, hemicelulosa, sustancias pépticas y lignina. El estudio mostró que la mayor proporción de fibra dietética la contiene la piel plateada en un porcentaje de  $80 \pm 0,6$  y la menor proporción fue para la pulpa de café con un  $28 \pm 0,7$ . De igual forma, la mayor actividad antioxidante la obtuvo la piel plateada con un  $2,12 \pm 0,4$  trolox/100g, y la menor actividad la obtuvo la pulpa con un  $1,53 \pm 0,6$  trolox/100g.

Los compuestos del café pueden emplearse como productos de valor agregado, especialmente en la industria alimentaria donde pueden usarse como aditivos naturales. El ácido clorogénico y los polifenoles son importantes agentes antioxidantes, los cuales se consideran importantes en la salud. La cantidad de fibra soluble presente en los residuos agrícolas es del 16 y 35% mayor en comparación con los cereales. La fibra dietética sumada a los agentes antioxidantes es del 40 al 80% por lo cual, podría usarse en productos alimenticios de alto valor nutritivo y como aditivos estabilizantes.

### **2.2.1. Antocianinas**

Las antocianinas son compuestos presentes en las plantas como pigmentos de frutas y flores. Presentan actividad antioxidante y despiertan interés como posibles agentes anti hipoglucemiantes, antiinflamatorios y anti carcinógenos. En el estudio de los autores Murthy, Madhava y otros [49], realizaron extracciones de la pulpa de café para purificar antocianinas, con el fin de evaluar su bioactividad.

Las muestras para las extracciones correspondían a pulpa de café y cáscara. Se realizó por la determinación de polifenoles por el método de Folin- Ciocalteou. Los pigmentos fueron extraídos empleando una solución 1:2 de ácido clorhídrico al 0,01 en metanol a 4°C, la mezcla obtenida fue filtrada y concentrada en un rota vapor. Las antocianinas monoméricas se leyeron por espectrofotometría. Los pigmentos también fueron purificados y se sometieron a una cromatografía HPLC. Se evaluó la actividad antioxidante, el poder reductor y la capacidad de las antocianinas de inhibir *in vitro* las enzimas amilasa y glucosidasa, con el fin de determinar el potencial de las antocianinas de producir efecto hipoglucemiante.

Los resultados mostraron que la pulpa de café analizada presentaba una proporción del 24% de antocianinas monoméricas/ 100g de pulpa fresca en peso seco. El contenido de polifenoles totales fue de  $4,55 \pm 0,15$  mg GAE. La actividad antioxidante (%) fue del  $85 \pm 5,0$  y el poder reductor (100µg/ml) fue de  $4,7 \pm 0,5$ . La purificación de antocianinas demostró que el compuesto cianidina 3-rutinosido fue la más presente, también se encontró un patrón en la espectroscopia de masas compatible con la ciadinina 3-glucosido. La actividad inhibitoria (concentración inhibitoria 50) frente a la enzima glucosidasa fue de  $IC_{50} 0,22$ mg/ml y para la amilasa fue  $IC_{50} 0,43$  mg/ml. Estas enzimas son conocidas por su participación en el metabolismo de los glúcidos, por lo que la actividad inhibitoria de estas enzimas por parte de subproductos del café como las antocianinas representa un punto clave para investigar como potenciales anti glicémicos.

### 2.2.2. Ácidos hidroxicinámicos

Los denominados ácidos hidroxicinámicos tales como el ácido ferúlico, cafeico, p-cumárico y clorogénico, son compuestos que se enlazan por medio de enlaces covalentes tipo éster a los polisacáridos de la pared celular vegetal. Son conocidos por presentar actividad biológica similar a las antocianinas (antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas). Estas propiedades los convierten en potenciales subproductos de valor agregado de la pulpa de café para las industrias nutraceúticas, cosmeceúticas y farmacéuticas. En un estudio de Torres-Mancera y otros [50], realizaron la liberación enzimática de los ácidos hidroxicinámicos unidos a los polisacáridos de pared celular empleando la producción de enzimas de una cepa del hongo filamentoso *Rhizomucor pusillus* (23aIV), tras una fermentación en estado sólido de la pulpa de café residual empleando aceite de oliva como inductor de la reacción. Las enzimas de interés para el estudio son las *feruloil esterasas* que rompen los enlaces ésteres metílicos de las hidroxicianinas, aunque en productos naturales se requiere de realizar mezclas con otras enzimas como *pectinasas*, *amilasas*, entre otras.

Tras la fermentación sumergida se realizaron extracciones enzimáticas de los ácidos hidroxicinámicos para posteriormente caracterizar los compuestos por medio de HPLC. Para evaluar la capacidad degradativa de las enzimas *feruloil esterasas* producidas tras la fermentación, se empleó una técnica titrimétrica utilizando como sustrato ferulado de metilo comercial. Esta última técnica se realizó a pH constante de 6,0 y la actividad se midió en unidades enzimáticas, teniendo en cuenta que cada unidad equivale a la cantidad de enzima necesaria para obtener 1  $\mu$ mol de producto cada minuto. Tras la realización de los ensayos de la actividad enzimática de las *feruloil esterasas* de los fermentos de la pulpa de café se encontró una actividad de  $1,12 \pm 0,10$  U/mg de proteína y  $12,11 \pm 0,05$  U/g de sustrato seco fermentado.

En la tabla 10, se observa el contenido de ácidos hidroxicinámicos (ferúlico, cafeico, p-cumárico y clorogénico). Este fue de 4416,7 y 856 mg de AH/ kg de pulpa de café para ácidos hidroxicinámicos (esterificados y libres respectivamente). Además, en sus proporciones (%) y masa total (mg/Kg de pulpa de café) se encontró que la pulpa es rica en ácido clorogénico y cafeico.

**Tabla 10.**

Contenido de ácidos hidroxicinámicos.

Compuestos	Ácido clorogénico	Ácido cafeico	Ácido ferúlico	Ácido P-Cumárico
AH libre (mg/kg)	714,2 ± 4,7	111,9 ± 4,9	30 ± 7,0	No detectado por HPLC
AH esterificado (mg/kg)	2382,8 ± 4,5	1873,1 ± 4,5	83 ± 5,8	78,7 ± 5,9
Proporción (%)	76,9	94,4	73,4	97,2

**Nota:** Datos obtenidos por un análisis por triplicado en relación con el rendimiento de extracción del ácido hidroxicinámicos (HA), en el cual se agregó la distribución de cada sustancia. Tomado de: M. T. Torres-Mancera, *et.al.* "Enzymatic extraction of hydroxycinnamic acids from coffee pulp". Food Technol. Biotechnol, vol. 49, n°. 3, pp. 369–373, 2011, [En línea] [https://www.researchgate.net/publication/230597690\\_Enzymatic\\_Extraction\\_of\\_Hydroxycinnamic\\_Acids\\_from\\_Coffee\\_Pulp](https://www.researchgate.net/publication/230597690_Enzymatic_Extraction_of_Hydroxycinnamic_Acids_from_Coffee_Pulp). [Fecha de acceso] 25/09/2020.

**Tabla 11.**

Contenido de polifenoles según los autores.

Artículo	Autores	Contenido de polifenoles
Aproveitamento de resíduos do processamento de café para produção de carotenoides por leveduras e bactérias. (2016)	M. Días	1,5% (0 – 3)
Changes in composition, antioxidant content, and antioxidant capacity of coffee pulp during the ensiling process. (2014)	T. Salinas, T. Sánchez , M. Ortega, M. Soto, A. Díaz, J. Hernández, C. Nava , H. Vaquera.	5,20 mg / kg de ácidos hidroxicinámicos
Recovery of Phenolic Antioxidants and Functional Compounds from Coffee Industry By-Products.(2012)	P.S. Murthy M. Madhava	1.48±0.9 % GA

Tabla 11. Continuación.

Extraction, Characterization and Bioactivity of Coffee Anthocyanins. (2012)	P.S. Murthy M.R. Manjunatha G. Sulochannama M. Madhava	4,55± 0,15 mg GAE
Enzymatic Extraction of Hydroxycinnamic Acids from Coffee Pulp. (2011)	M. Torres, J. Córdova, G Rodríguez, S. Roussos, M. Ramírez, E. Favela G. Saucedo	4416,7 mg/Kg AH (esterificado) 856 mg/Kg AH (libre)

**Nota:** Resumen de los artículos empleados para el desarrollo de capítulo en cuestión con el contenido de polifenoles obtenidos.

Para el cumplimiento del capítulo se presentaron cinco artículos diferentes en donde se realizaron determinaciones de múltiples compuestos como proteínas, azúcares, fibras totales, lignina, celulosa, polifenoles totales, ácido clorogénico, ácido cafeico, ferúlico, p-cumárico, ácidos hidroxicinámicos, entre otros. El principal método utilizado para determinar el contenido de polifenoles es Folin- Ciocalteou, una técnica espectrofotométrica en donde el ácido gálico se usa como patrón para la curva de calibración. Por otra parte, generalmente para aislar los otros compuestos se emplea la cromatografía HPLC. Cada autor mencionó la utilización de la pulpa de café residual en los diferentes procedimientos empleados, esto se evidencia en la tabla 11. Por ello, se concluye que los compuestos son variados y que la concentración de sustancias que se logre aislar de la pulpa de café dependerá del tipo de técnica, las estandarizaciones y de los disolventes empleados; además que existen otros compuestos químicos que generan un mayor interés en industrias como la farmacéutica, cosmeceútica, alimentos y nutraceútica.

### 3. APROVECHAMIENTO DE LA PULPA DE CAFÉ RESIDUAL

Los compuestos químicos provenientes de la pulpa del café, permiten conocer que sustratos resultan de interés para obtener diferentes productos. Tras someter la pulpa a tratamiento biológico se puede conocer que esta posee elementos que son de mayor interés para fines industriales como la obtención de enzimas, extracción de compuestos químicos como polifenoles y flavonoides entre otros procesos. La pulpa de café se conoce por su alto contenido de diferentes tipos de polifenoles que despiertan el interés industrial y para los cuales existen diferentes formas de extracción. En el siguiente capítulo se realiza una revisión que describirá el uso de agentes biológicos para el aprovechamiento de los polifenoles presentes en pulpa de café.

#### 3.1. Metodología

##### 3.1.1. Revisión de la literatura

Se realizó una revisión sistemática de la literatura en las bases de datos ScienceDirect, SpringerLink, Scopus y Google académico con el fin de encontrar información de los últimos veinte años acerca de la forma de aprovechamiento de los polifenoles. Como criterios de selección se tuvieron en cuenta artículos en inglés y español desde el año 2000 en adelante. Se seleccionaron ensayos controlados y revisiones en donde se reportaban el uso de microorganismos para el tratamiento biológico de la pulpa del café y su aprovechamiento en el área industrial. Como criterios de exclusión se estableció que no se tendrían en cuenta artículos en donde se evalúen en conjunto polifenoles con otros compuestos químicos.

**Tabla 12.**

*Términos de búsqueda.*

<b>Término Controlado DeCS</b>	<b>Término libre</b>
Industria del café, Polifenoles	Pulpa de café
Biodegradación ambiental	Tratamiento biológico, aprovechamiento

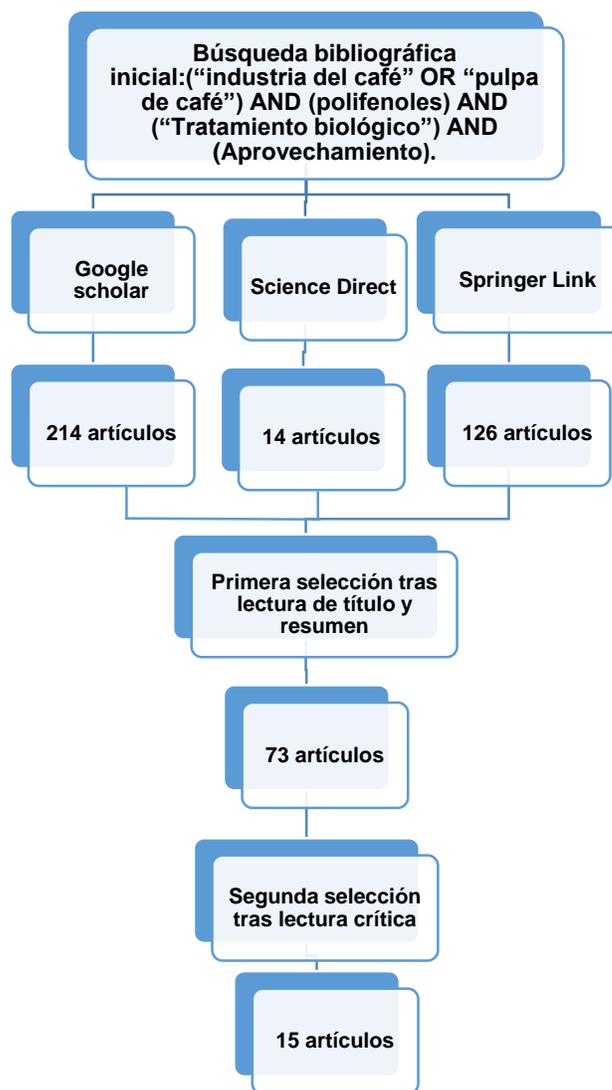
**Nota.** Palabras empleadas para la búsqueda sistemática.

### 3.1.2. Estrategias de búsqueda

Se empleó la siguiente estrategia de búsqueda en cada base de datos filtrando por tiempo (artículos de los últimos 20 años) y tipo de artículo (Artículo de investigación o revisión) con los tesauros (“industria del café” OR “pulpa de café”) AND (polifenoles) AND (“Tratamiento biológico”) AND (Aprovechamiento).

**Figura 11.**

*Flujograma de información capítulo 3.*



**Nota.** Imagen ilustrativa de la búsqueda de datos para el aprovechamiento biológico de la pulpa de café.

La figura anterior muestra el proceso de selección empleado para el siguiente capítulo a desarrollar empleando los mismos criterios de selección del capítulo anterior en donde primero se realiza una búsqueda en las diferentes bases de datos mencionadas en la revisión de literaturas, después se realiza una selección por resumen y título de los artículos, monografías, tesis entre otras. Finalmente se realiza un último filtro en donde la información en cuestión se somete a una lectura crítica obteniendo los datos necesarios para la realización del capítulo.

### **3.2. Tecnologías de conversión para la biomasa residual**

En los últimos años la importancia en la búsqueda de compuestos bioactivos que se encuentran en la generación de residuos agroindustriales, ha impulsado una nueva visión sobre el aprovechamiento de la biomasa residual de tal manera que puedan contribuir al desarrollo de la bioeconomía. Por ello, los residuos de café han generado un mayor interés por compuestos como ligninas, polifenoles, pigmentos, celulosa y fibra que son mencionados en el capítulo anterior; esto crea una alternativa en la reducción de los desechos contaminantes que al no tener una adecuada disposición afecta tanto a la naturaleza como a la salud en los humanos [51].

Empleando la biomasa se promueve el desarrollo sostenible en la economía de muchos países agrícolas, puesto que genera una manera rentable en diferentes procesos con el uso de estos residuos. Lo cual, se puede evidenciar en la producción de bioetanol, biogás, fermentaciones, obtención de ácidos orgánicos, pigmentos, pectinas entre otros. Por ello, actualmente se utilizan diferentes tecnologías como la química, termoquímica y biológica.

La primera tecnología consiste principalmente en la obtención de extractos y en la esterificación de ciertos productos como el biodiesel. La segunda utiliza cuatro procesos importantes: combustión, pirolisis, gasificación y licuefacción para obtener mayores concentraciones de las sustancias de interés; la tercera se centran en aquellos procesos, donde se emplean microorganismos o enzimas sintetizadas, esto se lleva a cabo por medio la digestión anaerobia o aerobia y por medio de las fermentaciones las cuales permiten obtener compuestos como enzimas, polifenoles, proteínas, fenoles, azúcares entre otras sustancias [51]. Por ello, la innovación biotecnológica actualmente demanda

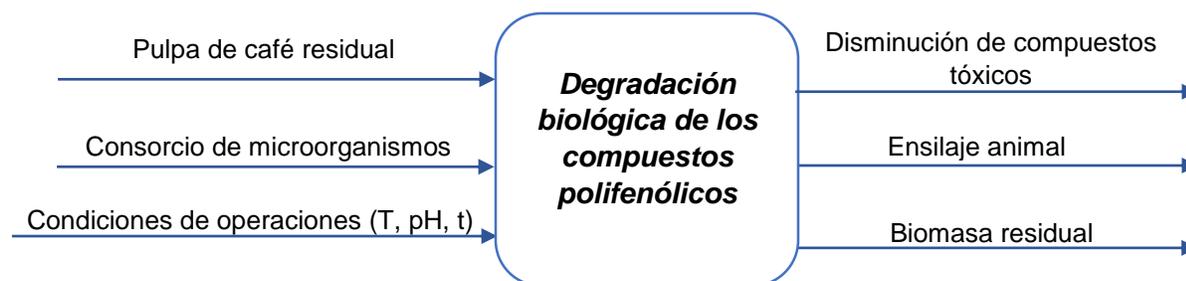
la búsqueda de nuevas fuentes o rutas de aprovechamiento de residuos como la pulpa de café, que por vía biológica, aporta la implementación de procesos fermentativos para la obtención de enzimas o extractos como ácidos orgánicos, pigmentos, además permitir la degradación de compuestos tóxicos y altamente contaminantes, lo que crea un fuerte impulso en la utilización de tecnologías no convencionales en los bioprocesos y así mismo obtener productos de valor agregado, procesos circulares y sustancias amigables con el medio ambiente [15].

### 3.3. Utilización de microorganismos para el aprovechamiento de compuesto de la pulpa de café residual

Actualmente la pulpa de café es empleada para diversos procesos con el fin de reducir el mayor impacto ambiental, adicionalmente como se mencionó en el capítulo anterior, este residuo posee en su composición sustancias que son utilizadas en procesos industriales. Los polifenoles contenidos en la pulpa de café residual se pueden utilizar por dos maneras indirecta o directa. Principalmente la forma indirecta consiste en emplear toda la pulpa con un tratamiento previo y realizar procesos fermentativos a partir de un consorcio de microorganismos entre hongos, levaduras, parásitos y bacterias para degradar biológicamente aquellos compuestos contaminantes y tóxicos otorgándole un valor agregado en otras sustancias como los polifenoles, proteínas, azúcares, fibras, entre otras, permitiendo a su vez obtener biomasa residual que puede ser reutilizada como abonos en los cultivos y productos de interés alimenticio como el ensilaje para animales.

**Figura 12.**

*Aprovechamiento de polifenoles de forma indirecta.*

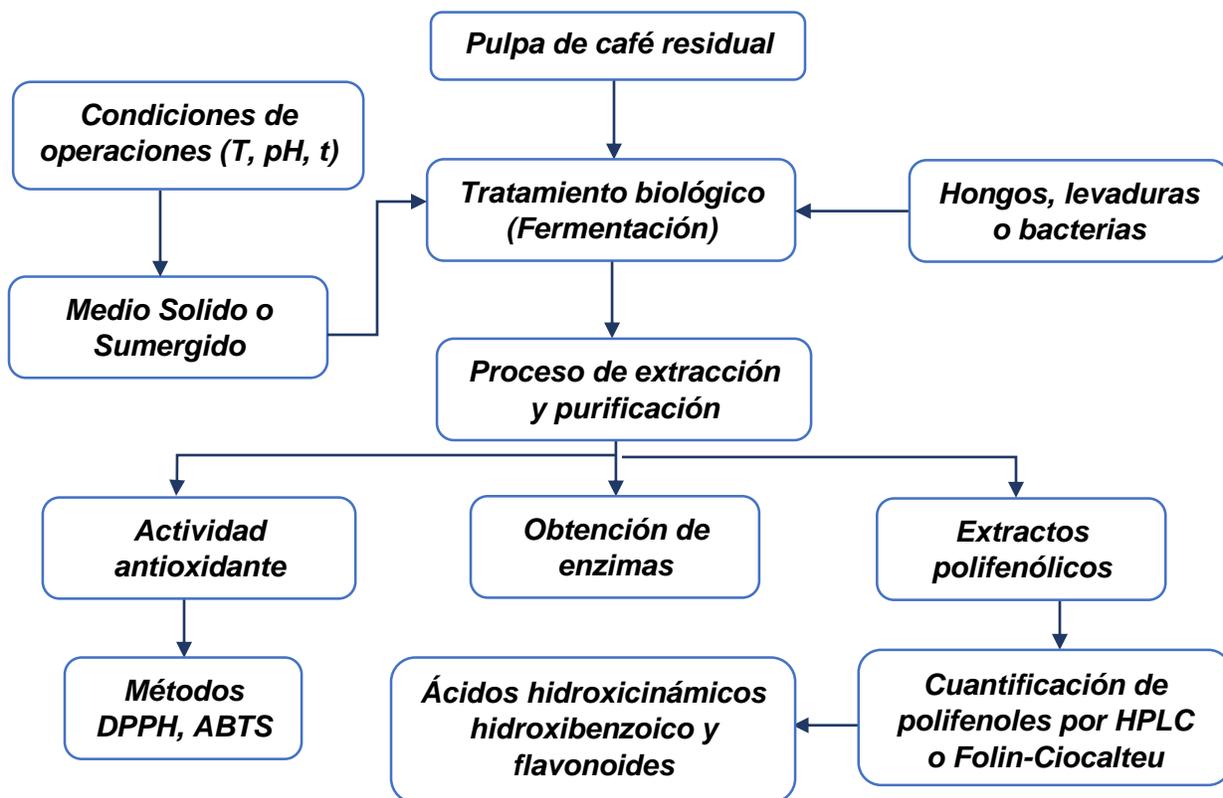


**Nota:** Representación del uso de la pulpa de café de forma indirecta para la obtención de los productos de interés.

En la forma directa se realizan fermentaciones con microorganismos específicos ya sean hongos, levaduras o bacterias, teniendo en cuenta condiciones de operaciones optimas como pH, temperatura y tiempo de residencia, después de esto se procede a hacer extracciones ya sean por maceración, soxhlet, asistida por ultrasonido o microondas, por fluidos súper críticos entre otras, esto dependerá de lo que se esté investigando, dicho esto pasa a un proceso de purificación por medio de filtros y centrifugación para obtener la mayor pureza posible en la cantidad de extractos obtenidos y alcanzar mejores resultados en el momento de ejecutar las cuantificaciones pertinentes, estas con el objetivo de determinar la actividad antioxidante, enzimas o polifenoles presente como lo son el ácido clorogénico, tánico, p-cumárico, cafeico, ferúlico, gálico y antocianinas, para emplearlos en industrias de alimentos y cosmética.

**Figura 13.**

*Aprovechamiento de polifenoles forma directa.*



**Nota:** Representación de la forma directa para el aprovechamiento de los polifenoles que se encuentran en la pulpa de café residual.

### **3.3.1. Fines alimenticios (Degradación)**

La pulpa de café residual genera impactos negativos para el medio ambiente, dado esto, Noriega y colaboradores, presentan una alternativa para la utilización de la pulpa en el ensilaje para alimentación animal mayormente en rumiantes. El ensilaje es un proceso biológico que se realiza a partir de una fermentación anaeróbica facilitada por microorganismos como bacterias ácido- lácticas las cuales permiten la preservación del alimento, adicionalmente mantiene una inocuidad y evitan la contaminación por otros microorganismos patógenos dado que existe una disminución en pH [52].

Principalmente el proyecto consistió en utilizar la pulpa de café del proceso húmedo en donde se despulpa, posteriormente se introdujo en silos de polietileno negro, esto con el fin de favorecer el crecimiento de las bacterias y producción de los ácidos para la preservación de la pulpa empleada y así obtener resultados satisfactorios. El muestreo se realizó por triplicado en un intervalo de tiempo de 90, 120 y 240 días después del proceso de fermentación; se evidencio una relación directa entre el aumento o disminución de las composiciones iniciales en función al tiempo. Para la cantidad de polifenoles presentes en el caso particular de este artículo se mencionan los taninos, los cuales presentan baja variación de la composición conforme a la cantidad inicial, a diferencia de otros compuestos como proteínas que tuvieron el valor más alto y el extracto libre con valores menores [14]. Esto quiere decir, que existe una alternativa viable para la utilización de polifenoles como valor nutricional en la elaboración de este tipo de alimentos, ya que al producir una disminución se genera un mejor valor nutritivo, además de que en dosis bajas producen efectos benéficos en los animales que lo consumen, como efectos antimicrobianos y mejora la digestión de nitrógeno de los rumiantes durante el pastoreo, lo que genera mayor productividad, por ejemplo, en las ovejas para la obtención de lana y en la vacas para la leche. [53]

En una revisión realizada por Flórez y Rosales, establecen que el ensilaje es una nueva alternativa alimenticia en donde se puede utilizar la pulpa de café y así mismo reducir la contaminación que se genera por este subproducto dado sus compuestos como fenoles, polifenoles, taninos y cafeína. Adicionalmente, muestran que al implementarla genera una reducción en costos, es buena fuente nutritiva y reduce o en

algunos casos inhibe el crecimiento de los taninos que pueden provocar, en altas concentraciones, la muerte de los animales. Por lo cual, se puede decir que, el empleo de la pulpa de café en alimentación de animales genera una sostenibilidad, productividad y alternativa económica para los caficultores [54].

Por esto mismo, Flórez realiza otro experimento en donde se emplea la pulpa de café en diferentes tiempos de fermentación para este caso 30,45 y 90 días usando bacterias ácido-lácticas; mostró que no existe un crecimiento de los taninos y que además de esto, generan, así como la cafeína un valor nutricional agregado que mejora la productividad de los animales. También prueba que es una manera eficaz del manejo de la pulpa y a su vez de compuestos polifenólicos que presentan capacidades antioxidantes, lo que ayuda a que el alimento se conserve en tiempos extensos. Adicionalmente, en comparación al artículo de Noriega y colaboradores el tiempo de fermentación es optimizado, ya que en el caso anterior los mejores resultados los obtuvieron a los 120 días, en comparación a este artículo que fueron a los 45 días. [55]

Otro estudio planteado por Orozco y colaboradores presenta una alternativa para mejorar el valor nutricional de la pulpa de café a partir de tratamientos biológicos por levaduras, hongos filamentosos y bacterias, para así desintoxicarla de compuesto como los polifenoles, taninos y cafeína. Para ello, se utilizaron estreptomicetos las cuales son bacterias filamentosas que producen enzimas degradativas y resistencia a condiciones extremas. “El objetivo principal del trabajo era analizar las diferentes modificaciones químicas que producen los compuestos polifenólicos en los residuos de pulpa de café por diversas cepas de actino-bacterias estreptomicetes en una fermentación en estado sólido”. [56]

La pulpa que utilizaron se esterilizó, se secó, molió y finalmente se tamizó para obtener pequeñas fracciones y así construir el sustrato en donde se depositaron las esporas. En las fermentaciones en medio sólido utilizaron matraces (500 mL) en donde cada uno contenía pulpa de café (3g), yuca como co-sustrato (0,5g) con 10 mL del inóculo respectivo. Estos cultivos los incubaron por 10 días con las diferentes condiciones de temperatura para cada tipo de cepa empleada. Posteriormente realizaron un proceso de pirólisis con el fin de obtener los compuestos deseados para el análisis. Se muestra los

porcentajes que corresponde a cada producto en donde encontraron que, los polifenoles totales se encuentran en un rango entre 45,6 hasta 32,6. Adicionalmente, se muestran compuestos como carbohidratos de 54,4-67,4. Por lo cual, se evidencia una disminución de los polifenoles por parte de las cepas *S. chattanoogensis* (30,5%) y *S.UAH Nic-C* (23,9%). Por ello, este estudio representa un avance importante ya que se considera que la pulpa de café puede ser aprovechada como alimento en animales y una posible alternativa de degradación de los compuestos anti nutricionales, además que, gracias a esto, se eleva compuestos como polisacáridos que representan altos valores en nutrición y mejora la calidad de la materia orgánica para la implementación en otros procesos. [56]

### **3.3.2. Actividad antioxidante**

Dado los compuestos bioactivos que posee la pulpa de café, se encuentra que es una buena fuente de obtención de antioxidantes naturales. Por ello López y colaboradores [57], realizaron un estudio en donde se evidencia que al liberar polifenoles se mejora la capacidad antioxidante de los extractos obtenidos de la pulpa de café residual en altas concentraciones de ácido clorogénico y resorcinol. Esto se realizó a partir de una fermentación en estado sólido por medio de la inoculación de ocho cepas de bacterias ácido lácticas, como las "*Lactobacillus casei* (LC), *Lactobacillus acidophilus* (LA), *Lactobacillus thermophilus* (LT), *Lactobacillus paracasei* (LP), *Bifidobacterium bifidum* (BB), *Bifidobacterium lactis* (BL), *Bifidobacterium longum* (BL) y *Streptococcus thermophilus* (LB)". [57]

Básicamente el ensayo consistió en un pretratamiento de la pulpa de café, la cual se secó para preservar a 60°C por 24 horas y así disminuir el contenido de la humedad al 5%. Se pulverizó obteniendo un tamaño de partícula pequeña para que las condiciones de cultivo y crecimiento bacteriano fueran óptimas. Para la inoculación de las diferentes cepas, emplearon un medio de cultivo denominado *caldo M.R.S* (Man, Rogosa y Sharpe), el cual permito un desarrollo adecuado de las bacterias ácido lácticas, esto a una temperatura de 37°C por 24 horas. La fermentación láctica se llevó a cabo en estado sólido. Se inocularon  $9,05 \times 10^6$  células por gramo de pulpa de café, cada cepa en diferentes cultivos homogenizando para alcanzar una humedad de 70%. Finalmente, se agregaron en bolsas herméticas de polietileno por 24 y 48 horas, tomando un tiempo

inicial de 0 h Para cada tiempo se obtuvieron la cantidad de polifenoles totales y la actividad antioxidante [57].

Utilizaron el método de Folin-Ciocalteu para calcular la concentración de polifenoles totales presentes en los extractos de la pulpa de café, adicionalmente se realizó un análisis de cromatografía de líquidos (HPLC) con el objetivo de identificar los compuestos polifenólicos presentes, como el ácido cumárico, pirogalol, ácido clorogénico y resorcinol. A partir de la fermentación se tomaron muestras y se midieron por los ensayos de captación DPPH y ABTS.

La liberación de los compuestos polifenólicos presentes en las muestras tratadas vario según el tipo de cepa empleada en el bioproceso. Como resultado se encontró que la bacteria *Lactobacillus casei* fue la única que género en los tiempos de fermentación, después de 48 h un incremento en estos compuestos de 10,2 mg/100ml a 12,3 mg /100ml. Adicionalmente al realizar las respectivas identificaciones, determinaron que los compuestos más destacados son el ácido clorogénico y resorcinol de extractos acuoso que se obtuvieron después de la fermentación. En la cepa *Bifidobacterium lactis*, además de los polifenoles mencionados, fue capaz de sintetizar otros biocompuestos como el ácido cumárico y el pirogalol en un tiempo inicial. Por ello se observa que cada cepa fue capaz de sintetizar compuesto o degradarlos todo dependiendo de la finalidad en la que se encamine el experimento. Por lo cual, esto muestra un gran potencial en la manifestación de actividad antioxidante por parte de bacterias ácido lácticas, en donde existen comportamientos similares entre los radicales de captación. Por ello, este tipo de compuestos generan un interés industrial en farmacia y alimentos para aquellos productos que requieran prolongar su vida útil.

Como se mencionó en el capítulo anterior los ácidos hidroxicinámicos son antioxidantes naturales con gran potencial de uso industrial encontrados en la composición de la pulpa de café, gracias a eso, estudios como el de Arellano y colaboradores [58] , presentan una alternativa en la liberación de estos compuestos de manera fermentada y no fermentada. Para ello, realizaron una fermentación en estado sólido (SSF) con una cepa de *Aspergillus tamarii* con un inóculo de  $2 \times 10^7$  esporas por gramo de materia seca a 30 °C, en un reactor agitado por cintas helicoidales. Cada

muestra obtenida se cuantificó por el método de Folin- Ciocalteou para polifenoles y la capacidad antioxidante por ABTS, los resultados obtenidos se muestran a continuación.

**Tabla 13.**

*Extractos polifenólico en pulpa de café.*

<b>Extractos</b>	<b>Pulpa fermentada (g/kg)</b>	<b>Pulpa no fermentada (g/kg)</b>
Polifenoles libres	137,8±23	122±8
Polifenoles unidos covalentemente	184,6±7.1	213±63
Total	322,4±30,1	335±71

**Nota.** Compuesto polifenólicos totales obtenidos de la pulpa fermentada y no fermentada, modificando la estructura de la tabla. Tomado de: M. A. Arellano-González, M. A. Ramírez-Coronel, M. T. Torres-Mancera, G. G. Pérez-Morales, and G. Saucedo-Castañeda, "Antioxidant activity of fermented and nonfermented coffee (*Coffea arabica*) pulp extracts," *Food Technol. Biotechnol.*, vol. 49, n°. 3, pp. 374–378, 2011, [En línea] <https://core.ac.uk/download/pdf/14439552.pdf> [fecha de acceso] 16/11/2020.

Para la cuantificación de los ácido hidroxicinamicos presentes, encontraron que la pulpa fermentada correspondía a 30,9±7,3 g/kg y para la no fermentada de 47,1±9,65 g/kg. A pesar de que se muestra un mayor incremento de este tipo de ácidos y por ende de los polifenoles en pulpa de café residual no fermentada, los autores mostraron que la pulpa de café fermentada presenta una mejor actividad antioxidante dada a la cantidad de ácidos hidroxicinámicos libres obtenidos (14,5 ± 6 g/kg) frente a la pulpa no fermentada (6,2 ±1,05 g/kg), esto puede ocurrir por la acción enzimática del hongo utilizado, el cual metabolizó los ácidos hidroxicinamicos unidos a la pared celular de la pulpa permitiendo la liberación e incremento en estos compuestos.

### **3.3.3. Obtención de extractos y enzimas**

Según el tipo de coproducto de café y su composición química, diferentes tecnologías enzimáticas se pueden utilizar como la producción de enzimas, hidrólisis enzimática, extracción asistida por enzimas, y otros. La aplicación de procesos enzimáticos para la reutilización de la biomasa se ha deseado cada vez más por ser una alternativa respetuosa con el medio ambiente que mejore la gestión de la gran cantidad de residuos generados por la industria del café [50].

En el estudio realizado por Ramírez y colaboradores, presentan la obtención de ácido clorogénico a partir del hongo *Aspergillus ochraceus*, por medio de una fermentación en medio sólido, donde se busca obtener enzimas como la *feruloil esterasa* y el *clorogenato esterasa* para que de manera más eco amigable se pueda producir el ácido de interés. Para esto, se utilizó urea y glucosa. En los sustratos se emplearon indicadores químicos para cuantificar con el tiempo de la fermentación la liberación del ácido cafeico. Se inocularon esporas ajustando la humedad del 75%, con 40g de medio de cultivo sólido y en baño de maría a 30°C introduciendo aire húmedo constante. Además, evaluaron el efecto de la temperatura y el pH sobre la actividad clorogenato esterasa. Se realizó un monitoreo por 24h durante 5 días, todo el proceso se realizó por triplicado [59].

Se encontró que la adición de 0,5% de glucosa a la fermentación en estado sólido permitió obtener 150 mU g<sup>-1</sup> de materia seca con actividad clorogenasa en pulpa de café y 500 mU g<sup>-1</sup> (o 41,7 mU mL<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>) para la cascarilla. Adicionalmente, permitió mejorar el rendimiento de la actividad clorogenasa, tanto en la pulpa como en la cascarilla. Por lo cual, ambos actúan como adecuados inductores de dicha actividad, permitiendo la síntesis de biocompuestos como el ácido clorogénico y el ácido cafeico resultados que se muestran en la tabla 14. [59]

**Tabla 14.**

*Composición de los subproductos del café.*

Compuesto	Cascarilla (mg/kg)	Pulpa (mg/kg)
Ácido clorogénico	56,4	806,7
Ácido cafeico	128,0	112,0

**Nota.** Datos reportados estadísticamente de los residuos de la pulpa y cascarilla de café, en el que se modificó la tabla, mostrando únicamente el contenido en ácidos hidroxicinámicos. Tomado de: L. Ramírez-Velasco “Liberation of caffeic acid from coffee pulp using an extract with chlorogenate esterase activity of *Aspergillus ochraceus* produced by solid state fermentation,” *Rev. Mex. Ing. Quim.*, vol. 15, n°. 2, pp. 503–512, 2016. [En línea] <https://www.redalyc.org/pdf/620/62046829017.pdf> [Fecha de acceso] 15/10/2020.

Concluyendo así, que la pulpa de café demostró que contiene en mayor proporción ácido clorogénico, el cual es liberado a partir de hidrólisis enzimática por los extractos

concentrados de *clorogenato esterasa* obtenidos de la fermentación por *Aspergillus ochraceus*. Este ensayo permitió evidenciar la biotransformación de la pulpa de café a partir de las enzimas de este microorganismo y sugiere que es una herramienta biotecnológica importante dada la eficiencia catalítica en la obtención de ácido clorogénico en mayor proporción, pero a su vez de otro compuesto polifenólico como el ácido cafeico, dando un paso a el aprovechamiento de los residuos agroindustriales del procesamiento del café.

Otro estudio que presenta Torres y colaboradores [60], muestra como a través de la extracción enzimática de los ácidos clorogénico (ChA) y cafeico se pueden llegar a emplear en diferentes productos naturales y evitar las sustancias sintéticas, además de disminuir el uso de extracciones convencionales con disolventes orgánicos (cloroformo, hexano, diclorometano, etc.) y por compuestos supercríticos. Por ello, este estudio presenta una nueva alternativa económica, sostenible y evita la generación de compuestos tóxicos que pueden afectar al medio ambiente y por ende a la salud humana.

La finalidad del ensayo fue la obtención mejorada de extractos de ácido clorogénico y cafeico a partir de extractos enzimáticos producidos por los microorganismos *Rhizomucor pusillus*, *Aspergillus tamarisii* y *Trametes sp*, en una fermentación en estado sólido utilizando como inductor la pulpa de café residual. Realizaron la inoculación cultivando en matraces las cepas durante 5 días a 30°C en una solución Tween 80. Con respecto a la pulpa de café se secó a 60 °C por un día para disminuir la humedad un 5%, se molió y tamizó, para después proceder con las fermentaciones correspondientes.

Principalmente se llevó a cabo la fermentación en estado sólido, en donde, emplearon como sustrato tartrato de diamonio, extracto de levadura, maltosa, cloruro de calcio, agua entre otros compuestos para el desarrollo óptimo de los microorganismos, además se realizó una esterilización de la pulpa y nutrientes para así, emplearlos como inductores de las enzimas feruloil esterasas (FAE). Se agregaron  $1 \times 10^8$  esporas por g de sustrato seco. El crecimiento de los hongos se controló continuamente online por g de  $\text{CO}_2$  producido [60].

Adicionalmente, los autores realizaron una segunda fermentación en cultivo sumergido para la biotransformación de ácido clorogénico, con el fin de evaluar el

comportamiento del hongo empleado frente a los ácidos quínico (QA), cafeico (CA), protocatecuico (PA) obtenido. En donde, se incubaron únicamente cepas de *Aspergillus niger* C23308 a 30°C por 120 h a 100rpm por duplicado. Por lo cual, se muestra una disminución del ácido cafeico y quínico frente a un aumento en el ácido protocatecuico y esto puede ocurrir debido a que el hongo filamentoso tomó como fuente de carbono parte del ácido cafeico, que en interacciones moleculares permitió el desarrollo y la liberación del PA. Para la mejora de la recuperación de los ácidos clorogénico y cafeico se llevaron a cabo ocho tratamientos enzimáticos los cuales se muestran en la tabla 15, adicionalmente a esto se realizó la cuantificación de los extractos por HPLC expresados en mg/kg de pulpa de café y para la biotransformación los rendimientos se evaluaron en % liberado de ChA.

**Tabla 15.**

*Tratamientos empleados para la obtención de compuestos de interés.*

<b>Extractos de enzimas</b>	<b>Tratamiento</b>	<b>Ácido clorogénico (mg/kg)</b>	<b>Ácido cafeico (mg/kg)</b>
<i>Rhizomucor pusillus</i>	A	331,0±5,7	19,2±2,4
<i>Aspergillus tamaraii</i>	B	97,8±5,3	327,8±2,3
<i>Trametes sp</i>	C	330,8±4,6	29,4±2,2
<i>Rhizomucor pusillus + Aspergillus tamaraii</i>	D	483,0±3,5	564,1±2,2
<i>Rhizomucor pusillus + Trametes sp</i>	E	905,3±4,2	56,7±2,7
<i>Aspergillus tamaraii + Trametes sp</i>	F	318,6±3,2	440,6±1,5
<i>Rhizomucor pusillus + Aspergillus tamaraii + Trametes sp</i>	G	860,3±4,5	618,5±2,8
<i>Rhizomucor pusillus + Aspergillus tamaraii + Trametes sp + pectinasa comercial</i>	H	1627,5±5,3	715,5±3,7

**Nota.** Rendimientos de extracción producidos a partir de la pulpa de café utilizando diferentes extractos enzimáticos. Tomado de: M. T. Torres-Mancera “Biotransformation and improved enzymatic extraction of chlorogenic acid from coffee pulp by filamentous fungi,” *Biotechnol. Prog.*, vol. 29, n°. 2, pp. 337–345, 2013. [En línea] <https://doi.org/10.1002/btpr.1696> [Fecha de acceso] 15/11/2020.

El contenido de los diferentes extractos enzimáticos de FAE, demuestran que el microorganismo con mayor producción fue el *Aspergillus tamaris* ( $20,6 \pm 0,10$  U/g) con respecto a *Rhizomucor pusillus* ( $13,5 \pm 0,05$  U/g) y *Trametes sp* ( $7,8 \pm 0,10$  U/g.) Adicionalmente se muestra como mejora la liberación de los ácidos estudiados a partir de la fermentación sólida (tabla 15); al realizar mezclas de los extractos se evidencia una recuperación mayor en los tratamientos G y H, sin embargo los microorganismos individualmente generan resultados positivos en los extractos de ácido clorogénico y cafeico, no obstante existen diferencias significativas en los rendimientos, ya que, las enzimas FAE son de diferente tipo y por ende su capacidad de extracción varía una de la otra.

El tratamiento G representa un gran avance dado que al utilizar tres tipos de extractos diferentes generan mayores resultados sobre todo en el ácido cafeico con respecto a los otros tratamientos (A, B, C, D, E y F); para el tratamiento H, al agregar el extracto comercial pectinasa mejora la eficiencia de la extracción de los ácidos orgánicos, asimismo representa una alternativa económica para la obtención y mejora de compuestos polifenólicos usando como inductor la pulpa de café residual. Por otro lado, la biotransformación del ácido clorogénico por medio de la fermentación sumergida, genera expectativas en la producción de otros biocompuestos por las diversas rutas metabólicas, como es el caso del ácido protocatecuico a partir del *Aspergillus niger*. [60]

El ácido gálico (ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico) es un antioxidante que se utiliza en diversas aplicaciones como complementos alimenticios, adyuvantes y medicamentos. Se presenta de manera natural o sintética, a partir de hidrólisis ácida o por hidrólisis microbiana de ácido tánico producida por la enzima tanasa. “Esta es la responsable de la descomposición de los galotaninos y taninos complejos en moléculas de ácido gálico y una molécula de glucosa”. [61]. Dicho esto, Bhoite y colaboradores realizaron un estudio en donde, mejoraron los parámetros para la producción de ácido gálico a partir de los taninos que se encuentran en la pulpa de café residual (8 - 10%).

Para esto se realizó una fermentación en estado sólido de microorganismos aislados de la tierra y subproductos del café, estos se seleccionaron a partir de una técnica de placa de agar en ácido tánico, en el que se evidencia que los hongos son capaces de

producir ácido gálico en mayor proporción, por lo cual obtuvieron 8 cepas de diferentes clases; se inocularon  $1,0 \times 10^6$  esporas en el medio con sus respectivas composiciones en fuentes de carbono, minerales, nutrientes a  $30^\circ\text{C}$  durante 96 h, además midieron el diámetro de crecimiento de las colonias para identificar la eficiencia de bioconversión de ácido tánico en ácido gálico. A partir de aquí se evalúa la optimización de las variables que más afectan en la producción de este compuesto y de las cuales se encuentran la humedad, el pH y el periodo de fermentación, adicionalmente se obtiene el microorganismo con mejores resultados el cual fue *Penicillium verrucosum* con  $35,23 \pm 1,30$  (mg/g de pulpa de café) de ácido obtenido inicialmente. Dado esto se realizan los respectivos ajustes en los parámetros, llevado cabo un pretratamiento con vapor para aumentar la porosidad del medio (pulpa de café) mezclado con una solución mineral. Se realiza nuevamente la inoculación de las esporas por el hongo seleccionado a  $30^\circ\text{C}$ , pH 3,32, humedad de 58,40% en un tiempo de fermentación de 96 h.

Una vez pasado el tiempo extrajeron el ácido gálico producido “por medio de un tampón de citrato en un agitador orbital a  $30^\circ\text{C}$  durante 60 min, posteriormente se filtró y centrifugó por 10 min” [61], obteniendo la sustancia de interés. Se realizaron los respectivos análisis en cuantificación de ácido gálico por HPLC y una estimación de ácido gálico por espectrometría de masas por lo cual se obtuvo como resultado que el contenido recuperado por *Penicillium verrucosum* fue de  $162,76 \pm 13$  (mg/g de pulpa de café).

Este experimento muestra la capacidad de los hongos filamentosos para la producción de ácidos orgánicos que a partir de un bioprocesos permite mejorar las condiciones de crecimiento para obtener altos rendimientos en este tipo de polifenoles, utilizando como sustrato pulpa de café, además de una gran posibilidad de extraer microorganismos nativos de las producciones de café, en donde, se pueden encontrar hongo como *Penicillium sp*, *Aspergillus sp*, *Neurospora sp*, *Rhizopus sp* y *Pleorotus sp* los cuales son viables para la producciones de otros compuestos como azúcares, proteínas, pectinas entre otros.

Por otro lado, Palomino y colaboradores [62], presentan una alternativa de mejoramiento de extracción de compuesto polifenólicos como el ácido clorogénico,

cafeico y rutina (flavonoide) a partir de los residuos de mayor contaminación como lo son la cascara y la pulpa de café. Para esto se utiliza la cepa de *Penicillium purpurogenum* para mejorar la liberación de este tipo de compuesto.

Para llevar esto a cabo, emplearon sustratos de pulpa y cascarilla de café secados y triturados. La fermentación se realizó en bolsas plásticas con adición de azúcares como lactosa. Las cepas del hongo se inocularon con  $1 \times 10^6$  esporas/ 10g de sustrato durante 5 días para observar la influencia de los parámetros con mayor incidencia sobre los compuestos de interés, los cuales fueron la humedad inicial del sustrato, el pH del medio y la temperatura de incubación. Luego de esto, realizaron una nueva fermentación con los parámetros corregidos con un pH de 5, humedad a 50% a una temperatura de 30 °C para ambos sustratos en donde se muestra un crecimiento óptimo por parte del hongo empleado.

Tomaron muestras para realizar las respectivas cuantificaciones; para los extractos emplearon 10g de cada sustrato fermentado con 200 ml de acetona al 80%, concentrándolo a rota vapor y así determinar el contenido de polifenoles presentes con el método de Folin-Ciocalteu, la muestra restante la liofilizaron para almacenarla en estado sólido y realizar los análisis de HPLC y la actividad antioxidante.

Finalmente obtuvieron como resultados que la cascarillas y la pulpa de café son subproductos adecuados para aprovecharlos como sustratos en medios sólidos para este tipo de hongo, además que gracias a esto se logran resultados positivos con respecto al contenido de compuesto polifenólicos, dando como valores que para la “cascarilla la cantidad de ácido clorogénicos, ácido cafeico y rutina fue de  $132,50 \pm 0,7$ ,  $28,27 \pm 0,62$  y  $8,26 \pm 0,32$  mg/g y para la pulpa de café de  $22,83 \pm 0,16$ ,  $4,29 \pm 0,24$  y  $1,95 \pm 0,27$  mg/g respectivamente” [62].

Con respecto a la capacidad antioxidante se muestra que se obtuvieron valores de  $27,4 \pm 0,14$  para la cascarilla y  $36,4 \pm 0,78$  para la pulpa de café, lo que indica que los subproductos de café son capaces de captar radicales libres tanto en extractos como en muestras sólidas, sin embargo, existe mayor pureza por parte de los extractos y puede darse a la presencia de otros compuestos como azúcares.

En la siguiente tabla se representa de manera sintetizada los artículos que aprovechan la pulpa de café residual en diferentes fermentaciones para la obtención de compuesto polifenólicos como lo son ácidos hidroxicinámicos e hidroxibenzoico, indicando que tipo de tratamiento corresponde para cada uno.

**Tabla 16.**

*Resumen de algunos artículos empleado.*

<b>Articulo</b>	<b>Autores</b>	<b>Tratamiento</b>
Composición química de la pulpa de café a diferentes tiempos de ensilaje para su uso potencial en la alimentación animal. (2009)	A.Noriega Salazar R.S. Acuña M.García de Salcedo	Degradación
Efecto del tiempo de fermentación sobre la calidad nutricional del ensilaje de pulpa de Coffea arabica L.(2020)	D.F. Flórez-Delgado	Degradación
Biotechnological enhancement of coffee pulp residues by solid-state fermentation with <i>Streptomyces</i> . Py-GC/MS analysis. (2008)	A.L. Orozco; M.I. Pérez O. Guevara; J. Rodríguez M. Hernández; F.J. González O. Polvillo; M.E. Arias	Degradación
Incremento de la capacidad antioxidante de extractos de pulpa de café por fermentación láctica en medio sólido. (2013)	T. López; A. Prado; G.V. Nevárez; J.C. Contreras; R. Rodríguez ; C.N. Aguilar	Extracto
Antioxidant activity of fermented and nonfermented coffee ( <i>Coffea arábica</i> ) pulp extracts. (2011)	M. Torres; J. Cordova; G. Rodríguez; S. Roussos; M. Ramírez; E. Favela; G. Saucedo	Extracto
Liberation of caffeic acid from coffee pulp using an extract with chlorogenate esterase activity of <i>Aspergillus ochraceus</i> produced by solid state fermentation. (2016)	L. Ramírez; M. A. Armendáriz J. Arrizon; J. A. Rodríguez J. C. Mateos	Extracto

Tabla 16. Continuación.

Biotransformation and improved enzymatic extraction of chlorogenic acid from coffee pulp by filamentous fungi. (2013)	M. Torres; I. Baquero; A. Figueroa; G. Rodríguez; E. González; E. Favela; G. Saucedo	Extracto
Statistical optimization of bioprocess parameters for enhanced gallic acid production from coffee pulp tannins by <i>Penicillium verrucosum</i> . (2013)	R. N. Bhoite P. N. Navya P. S. Murthy	Extracto
Enhanced extraction of phenolic compounds from coffee industry's residues through solid state fermentation by <i>Penicillium purpurogenum</i> . (2015)	L. Palomino C. Biasetto A. Araujo V. Bianchi	Extracto

**Nota.** Diversos aprovechamientos que se le dan a la pulpa de café por medio de microorganismos.

La pulpa de café al ser el residuo en mayor cantidad en la generación de sub-productos de este proceso, representa una alternativa viable en su utilización por medio de microorganismos como hongos filamentosos y bacterias, dando así un gran potencial en investigaciones por sus diverso contenido en sustancias que pueden ser aprovechadas en otros procesos industriales; actualmente se realizan otras investigaciones para la obtención de productos como coagulantes naturales a través del fruto del café [22], tratamiento de aguas residuales empleando coagulantes naturales [63], pigmentos o colorantes naturales, determinando metabolitos secundarios como los taninos, flavonoides y alcaloides [64], fármacos para la prevención de enfermedades a partir de los ácidos fenólicos [23], producción de abono orgánico para diversos cultivos [65], entre otras aplicaciones en las que se puede llegar a utilizar no solo la pulpa de café sino también otros residuos de este proceso.

En este caso particular se evidencia que la pulpa al someterse a diversos bioprocesos como las fermentaciones, dan como resultado la síntesis de polifenoles como los ácidos fenólicos, que realizando extracciones posteriores alcanzan buenos

rendimientos para llegar a implementarse de manera industrial, además de esto se pueden realizar degradaciones por diferentes microorganismos para disminuir aquellos compuestos altamente tóxicos como los taninos y la cafeína. Por lo cual, nos muestra que los residuos de pulpa de café generan una opción en la creación de nuevos ensayos para ser aprovechada en procesos sostenibles, rentables y soluciones para la contaminación medio ambiental por este subproducto, apoyando el concepto de química verde y eliminando o reduciendo el uso de sustancias químicas peligrosas.

## **4. TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS EMPLEADOS PARA LA RECUPERACIÓN DE POLIFENOLES EN PULPA DE CAFÉ**

En el presente capítulo se mostrarán los diferentes tratamientos encontrados para la obtención y recuperación de polifenoles como ácidos fenólicos, para esto se realizó una matriz en donde se mostrará el tipo de microorganismo, una breve descripción de los tratamientos, los polifenoles encontrados y cuanto se recuperó según cada autor. Adicionalmente se hablará de la importancia del uso de los bioprocesos y utilización de los subproductos del café mayormente la pulpa para ser implementada en posibles futuros estudios.

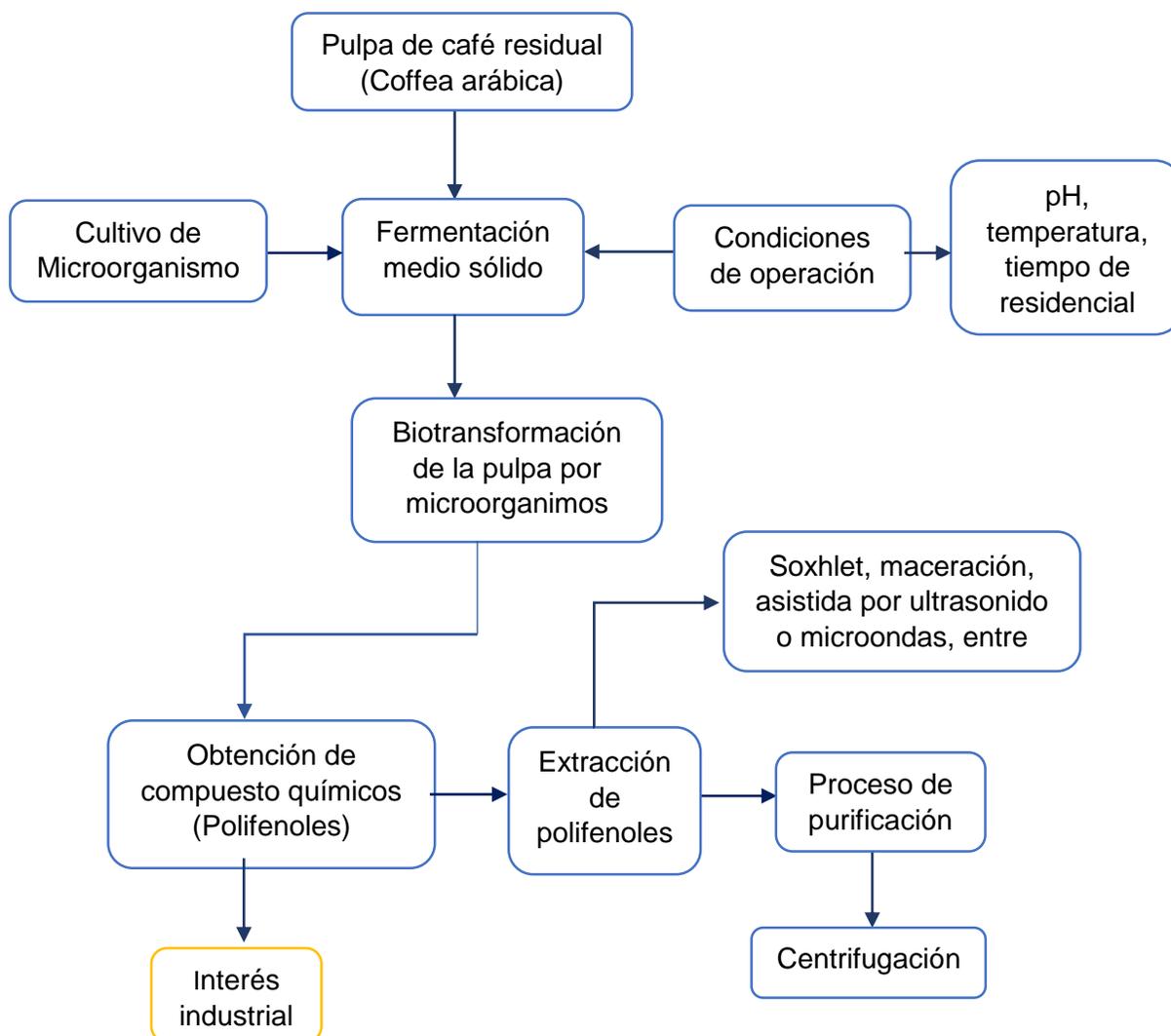
### **4.1 Matriz descriptiva de los aprovechamientos de la pulpa de café residual**

A partir de lo mencionado en el capítulo anterior se obtuvieron los métodos biológicos que hasta el momento se han utilizado para el aprovechamiento de la pulpa de café y, por ende, la obtención de polifenoles principalmente en síntesis de ácidos hidroxicinámicos como se evidencia en la figura 14. Por lo cual, estos bioprocesos logran la transformación por microorganismos en mayor proporción hongos, dándole no solo un valor agregado a la pulpa, sino que también se obtienen compuestos por síntesis metabólica que pueden llegar a ser empleados industrialmente.

Este tipo de procesos permiten generar una alternativa económica, provechosa y amigable con el medio ambiente, proponiendo una solución a la contaminación masiva por este tipo de agroindustria y a su vez la demanda de las necesidades de los seres humanos. Por lo cual, se aprecia un proceso sostenible circular en donde todas las entradas y salidas son aprovechadas y se obtienen compuestos naturales en lugar de la creación de compuesto sintéticos que pueden llegar a ser tóxicos.

**Figura 14.**

*Diagrama obtención compuestos polifenólicos.*



**Nota:** Representación de un bioproceso para el aprovechamiento de la pulpa de café residual.

En la tabla 17 se muestran los resultados que se obtuvieron a partir de la revisión bibliográfica realizada a los polifenoles que se encuentran presentes en la pulpa de café, que por fermentación sólida crean un interés biotecnológico y representan nuevas alternativas de aprovechamiento de este tipo de sustancias.

**Tabla 17.**

*Resumen de tratamientos encontrados.*

Tratamiento	Microorganismo	Descripción	Polifenoles encontrados	Recuperación de polifenoles
1	<i>Bacterias ácido lácticas (L. casei)</i>	Utilización de pulpa de café como sustrato en una fermentación sólida a partir de 8 cepas de hongos filamentosos, en donde se presenta que el microorganismo <i>Lactobacillus casei</i> fue el único que permitió la liberación de los compuestos polifenólicos.	ácido clorogénico y cafeico	12,3 mg /100ml
2	<i>A. ochraceus</i>	Obtención de ácido clorogénico por hidrolisis enzimática a partir de las enzimas feruloil esterasa y clorogenato esterasa, utilizando como medio inductivo 40g de pulpa de café en fermentación en medio sólido durante 5 días.	ácido clorogénico y cafeico	0,919 (mg / g)
3	<i>A. tamaritii</i>	Liberación de compuestos polifenólicos como los ácidos hidroxicinámicos utilizando 100g de pulpa de café en fermentación sólida.	Polifenoles totales	322,4±30,1 (mg/g)
4	<i>R. pusillus</i> <i>A. tamaritii</i> <i>Trametes sp</i>	Biotransformación de extractos como ácido clorogénico y cafeico a partir de hongos filamentosos en fermentación sólida usando como inductor 100g de pulpa de café.	ácido clorogénico y cafeico	1,479 (mg / g)
5	<i>P. verrucosum</i>	Mejora de los parámetros para la producción de ácido gálico en una fermentación sólida empleando pulpa y aislando hongos de la producción de café.	ácido gálico	162 ±13 (mg/g)
6	<i>P. purpurogenum</i>	Alternativa de obtención de compuestos polifenólicos a través de sustratos con mayor contaminación como lo son la pulpa y cascara de café en medios sólido durante 5 días.	ácido clorogénico, cafeico y rutina	29,07 (mg/g)

**Nota.** Métodos biológicos encontrados para el aprovechamiento de pulpa de café residual como sustrato y obtención de ácidos fenólicos (polifenoles).

Según la tabla anterior, se encuentra que la pulpa de café residual despierta un interés en su aprovechamiento debido a los compuestos polifenólicos de alto valor agregado que presenta, como los son el ácido clorogénico, cafeico, gálico, p-cumárico, ferúlico, entre otros. Todas las sustancias, evidenciaron alta “capacidad antioxidante que inhiben o neutralizan radicales libres e hidroperóxidos de otras especies reactivas de oxígeno” [66] lo que ocasionan una reducción y mayor preservación para aquellos compuestos de fácil oxidación. Cada compuesto polifenólico se clasifica “según el número en anillos aromáticos y posición del grupo hidroxilo, lo cual, a partir de la presencia del grupo di carboxilo ( $\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$ ) que son representativos de los ácidos hidroxicinámicos permiten una mayor captación en la propiedad antioxidante frente a los ácidos hidroxibenzoico con el grupo carboxilo ( $\text{COOH}$ )”. [67]

Por lo cual, se evidencia que por medio de estos microorganismos existe una posibilidad de extraer compuestos polifenólicos de la pared celular de la pulpa de café de la especie *Coffea arábica*, al generar una liberación por las diferentes rutas metabólicas. Para determinar la cantidad de dichas sustancias, actualmente se emplean métodos como Folin-Ciocalteu y HPLC, en donde, basados en la tabla 17 se puede observar que los tratamientos 3, 5 y 6 representan una recuperación en cantidad de polifenoles mayor con respecto a los tratamientos 1, 2, y 4. Esto debido a que varios autores realizaron una optimización en las fermentaciones para obtener mejores resultados, mostrando cuales parámetros son de gran importancia en este tipo de bioprocesos. Sin embargo, cabe resaltar que a pesar de que son primeros ensayos muestran un gran potencial en el uso de este tipo de residuos agroindustriales.

Con respecto a la implementación de procesos biológicos que generan interés no solo por los productos naturales que se obtienen, sino también la visión sobre la reducción de contaminación por el alto consumo de productos agroindustriales, se encuentra que las fermentaciones por medio sólido (SSF) en los últimos años han representado un alto potencial en la conversión de este tipo de residuos debido a las ventajas que proporciona, como la reducción de sistemas energéticos, siendo más económicos y evitando el uso de compuestos tóxicos para las diferentes extracciones en las que lo requiera el proceso.

Los microorganismos con mayor eficiencia en este mecanismo de fermentación corresponden a las levaduras, bacterias y hongos, siendo los más utilizados y en los que se encuentran mejores resultados en la liberación de este tipo de compuestos. Los hongos filamentosos representan un mejor comportamiento frente a otros microorganismo, ya que, se adaptan mejor a las condiciones en donde el contenido de agua es bajo y llegan a simular en algunos casos el hábitat natural, favoreciendo a su vez el crecimiento de las hifas, las cuales penetran por completo el sustrato y así colonizarlo, por lo cual se presentan altos rendimientos y mejores productividades [68]. No obstante, hay que tener en cuenta que las levaduras y las bacterias al realizarle un proceso de hidrólisis ya sea de tipo enzimático, alcalino o ácido, permite la obtención compuestos que son de difícil degradación como las ligninas, celulosa y hemicelulosa, para así obtener mejores rendimientos y mayor cantidad de colonias.

Como se mencionó anteriormente, existen varios factores importantes en los que afectan las SSF como la elección adecuada de la cepa y sustrato, selección de los parámetros como el pH, tiempo de fermentación y temperatura que inciden directamente en los resultados, por lo cual es necesario realizar ensayos en los cuales se controlen y se mejoren estos elementos cruciales para el óptimo desarrollo y posterior obtención de los polifenoles.

Los ensayos realizados demuestran una alternativa para el uso de la pulpa de café residual. La obtención no solo de compuestos polifenólicos sino también de enzimas como los son las lacasas, peroxidasas, esterases, hidrolasas, tanasas entre otras, que debido a su naturaleza permiten reducir los tiempos del proceso y acelerar diferentes reacciones metabólicas que se presentan en función al sustrato-microorganismo, generando una nueva visión en la implementación de estas para procesos ecológicos y amigables con el medio ambiente. Adicionalmente ayudan a la degradación de compuestos tóxicos como los taninos por medio de las tanasas produciendo ácido gálico o la enzima clorogenato esterasa para la recuperación de ácido clorogénico.

En los últimos años este tipo de enzimas han demostrado ser una herramienta clave en las industrias, se encuentran clasificadas según el sector en el que se aplique como en los alimentos , coadyuvantes de procesamientos, biocatalizadores industriales,

ingeniería genética y en cosmética [69]. Sin embargo, su uso se encuentra un poco limitado dado la disponibilidad y en algunos casos el costo, por lo cual los microorganismos se presentan como una fuente viable para la obtención de enzimas a comparación de los tejidos animales y vegetales. Por esta razón, se realizan los diversos medios de cultivos para que los microorganismos secreten las enzimas y a su vez se faciliten la recuperación de dichos componentes. En producción se encuentra que cerca del 50% son de hongos y levaduras, 35% por bacterias y 15% por plantas y animales [70]. Algunos usos biotecnológicos de las enzimas son: bioprocesos como fermentación, cultivo celular y elaboración de cervezas; alimentos como panes, mantequilla, lácteos confiterías, aditivos; en fármacos, clonación y restricción de genes, entre otros productos en donde la demanda industrial requiera implementar enzimas para disminuir el uso de agentes químicos que provienen del sector petroquímico.

Los ácidos hidroxicinámicos son los compuestos que se presentan en mayor proporción en la pulpa de café y que ofrecen con sus propiedad antioxidante, un beneficio en las industrias para su implementación en medicamentos como fármacos para el Alzheimer, cardiovasculares, digestivos; en alimentos como aditivos, en el ensilaje o alimentación animal dado que estimula una mejor calidad en las carnes y la secreción hormonal [71] y cosméticos como el ácido ferúlico el cual protege de los rayos UV la piel, por ello se encuentra en cremas y ampollas.

Dado que los tratamientos biológicos no son convencionales, es necesario seguir investigando en otras vías que permitan la generación y obtención de otros compuestos polifenólicos por métodos biológicos como por ejemplo las antocianinas. Finalmente, con ayuda de los residuos del proceso del café y especialmente la pulpa como medio de sustrato en los bioprocesos, proporciona una solución en los problemas medioambientales generados por la mala disposición de este subproducto, además de que crea nuevas líneas de investigación que a futuro pueden llegar a ser establecidas en diversos procesos industriales.

## 5. CONCLUSIONES

Mediante la revisión bibliométrica realizada se mostró que los compuestos polifenólicos presentes en la pulpa de café de la especie *Coffea arábica* corresponde entre 1-1,5% en mayor proporción los ácidos hidroxycinámicos y antocianinas, sin embargo, se presentan otros compuestos de interés industrial como lo son azúcares, carbohidratos, fibras, lignina entre otros. Adicionalmente, se muestra que estos compuestos tienen capacidad antioxidante, en donde, los autores evidencian métodos como ABTS, DPPH Y FRAP para determinar dicha propiedad, además de técnicas para la cuantificación de polifenoles por el método Folin-Ciocalteu y HPLC.

Los compuestos polifenólicos presentan una problemática anti nutricional cuando se encuentra sin un previo tratamiento, generando factores tóxicos y que limitan su uso. Sin embargo, se evidencian métodos biológicos con el uso de hongos filamentosos (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizomucor*, *Trametes*) y bacterias ácido lácticas. Estos microorganismos interactúan con la pulpa degradando compuesto que pueden llegar a ser tóxicos, además como otros sustratos que permiten una mayor recuperación de compuestos tales como los polifenoles. Esto es posible debido a la interacción del medio de sustrato ya que la pulpa de café es rica en azúcares y nutrientes lo cual permite el crecimiento de estos microorganismos. Adicionalmente, su uso puede ser crucial para la obtención de ácidos orgánicos como ácido clorogénico, cafeico, gálico, p-cumárico entre otros para industrias cosméticas, farmacéuticas y de alimentos.

Los tratamientos biológicos con mayor recuperación para el aprovechamiento de la pulpa de café residual encontrados, fueron en su orden: (i) una fermentación sólida del hongo *Aspergillus tamarii*, porque se evidenció una mayor cantidad en polifenoles liberados con  $322,4 \pm 30$  mg/g; (ii) el tratamiento empleado para la obtención del ácido gálico a partir de la enzima liberada (tanasa) por el microorganismo *P. verrucosum* optimizando los parámetros de pH 3,32, humedad de 58,40% y tiempo de fermentación de 96 h recupero con  $162 \pm 13$  mg/g. Finalmente (iii), se evidenció una mejor recuperación en función al ácido clorogénico dado que se encuentra en un 23% presente en la pulpa de café residual, por el tratamiento por el hongo *P. purpurogenum* con un

resultado de  $22,83 \pm 0,16$  mg/g, en donde los autores establecieron una optimización de los parámetros como pH de 5, humedad a 50% y temperatura de 30 °C.

Dado el alto grado de contaminación que se presenta por este tipo de subproductos del café, estas investigaciones son importantes para la recuperación de compuestos presente en los residuos agroindustriales y así generar beneficio directo para los caficultores y el medio ambiente, incentivando un diseño integral como lo son los bioprocesos.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] E. Figueroa-Hernández, F. Pérez-Soto, L. Godínez-Montoya, and R. A. Perez-Figueroa, “Los precios de café en la producción y las exportaciones a nivel mundial,” *Rev. Mex. Econ. y Finanz.*, vol. 14, no. 1, pp. 41–56, Jan. 2019, doi: 10.21919/remef.v14i1.358.
- [2] J. M. Suarez Agudelo, “Aprovechamiento de los residuos sólidos provenientes del beneficio del café, en el municipio de Betania Antioquía: Usos y aplicaciones,” Caldas Antioquia, 2012.
- [3] J. A. Serna-Jiménez, L. S. Torres-Valenzuela, K. Martínez Cortínez, and M. C. Hernández Sandoval, “Aprovechamiento de la pulpa de café como alternativa de valorización de subproductos.,” *Rev. ION*, vol. 31, no. 1, pp. 37–42, Nov. 2018, doi: 10.18273/revion.v31n1-2018006.
- [4] M. del rocío F. Zamora, “DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS CLOROGÉNICO Y CAFEICO, CAFEÍNA, POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE TRES VARIEDADES DE CAFÉ (*Coffea arabice* L.),” Universidad nacional agraria de la selva, 2009.
- [5] Federación Nacional de Cafeteros, “Proceso de producción del café,” 2020. .
- [6] Federación Nacional de Cafeteros, “Variedades de café sembradas en Colombia,” *La Cart. Cafe.*, pp. 1–22, 2002.
- [7] A. Farah and T. F. Dos Santos, *The Coffee Plant and Beans: An Introduction*. Elsevier Inc., 2015.
- [8] J. P. C. DIAZ and J. D. P. PINZÓN, “CARACTERIZACIÓN DE LAS ETAPAS DE FERMENTACIÓN Y SECADO DEL CAFÉ LA PRIMAVERA,” ESCUELA COLOMBIANA DE INGENIERÍA JULIO GARAVITO, 2014.
- [9] International Coffee Organization, “Procesamiento de campo.” .
- [10] M. C. M. Ensuncho, “Evaluación de la actividad coagulante de los polifenoles extraídos de residuos de Café( *COFFEA ARABICA*),” Fundación Universidad de America, 2019.
- [11] G. Puerta, “Especificaciones de origen y buena calidad del café de Colombia,” *Av. técnicos Cenicafé*, no. 316, p. 7, 2003.
- [12] J. R. Sanz, C. E. Oliveros, C. A. Ramírez, U. López, and J. Velásquez, “Controle los flujos de café y agua en el módulo becolsub,” *Cenicafé. Av. Técnicos*, vol. 405, no. 1, pp. 1–8, 2011.
- [13] M. C. Echeverria, E. Pellegrino, and M. Nuti, “Solid Waste Management in Rural Areas,” Sep. 2017, doi: 10.5772/INTECHOPEN.69427.
- [14] Adrianyela Noriega Salazar, Ramón Silva Acuña, and Moraima García de Salcedo, “Composición química de la pulpa de café a diferentes tiempos de

- ensilaje para su uso potencial en la alimentación animal,” Mar. 2009. .
- [15] C. Ramirez, C. Oliveros, and J. Sanz, “Manejo de lixiviados y aguas de lavado en el proceso de beneficio húmedo del café,” *Cenicafé*, vol. 66, no. 1, pp. 46–60, 2015.
- [16] C. M. Galanakis, *Coffe Processing By-Products*. Chania, Greece: Elsevier Inc., 2017.
- [17] L. Sofía Torres-Valenzuela, J. Andrea Serna-Jiménez, and K. Martínez, “Coffee By-Products: Nowadays and Perspectives,” *Coffee - Prod. Res.*, pp. 1–18, 2020, doi: 10.5772/intechopen.89508.
- [18] P. Esquivel and V. M. Jiménez, “Functional properties of coffee and coffee by-products,” *Food Res. Int.*, vol. 46, no. 2, pp. 488–495, 2012, doi: 10.1016/j.foodres.2011.05.028.
- [19] S. I. Mussatto, E. M. S. Machado, S. Martins, and J. A. Teixeira, “Production, Composition, and Application of Coffee and Its Industrial Residues,” *Food Bioprocess Technol.*, vol. 4, no. 5, pp. 661–672, Jul. 2011, doi: 10.1007/s11947-011-0565-z.
- [20] R. C. Borrelli, F. Esposito, A. Napolitano, A. Ritieni, and V. Fogliano, “Characterization of a New Potential Functional Ingredient: Coffee Silverskin,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 52, no. 5, pp. 1338–1343, Mar. 2004, doi: 10.1021/jf034974x.
- [21] K. Ramalakshmi, L. J. M. Rao, Y. Takano-Ishikawa, and M. Goto, “Bioactivities of low-grade green coffee and spent coffee in different in vitro model systems,” *Food Chem.*, vol. 115, no. 1, pp. 79–85, Jul. 2009, doi: 10.1016/j.foodchem.2008.11.063.
- [22] D. Chacua and M. Rodriguez, “Evaluacion de los polifenoles extraidos a partir de residuos de Coffea Arabica, para la produccion de un coagulante natural.” 2018.
- [23] M. Quiñones, M. Miguel, and A. Aleixandre, “Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular,” in *Nutr. Hosp.*, vol. 27, no. 1, CRC Press, 2010, pp. 587–601.
- [24] R. Zarghami, M. Pirseyedi, S. Hasrak, and B. P. Sardrood, “Evaluation of genetic stability in cryopreserved Solanum tuberosum,” *African J. Biotechnol.*, vol. 7, no. 16, pp. 2798–2802, 2008, doi: 10.5897/AJB08.087.
- [25] I. C. W. Arts and P. C. H. Hollman, “Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies,” *The American journal of clinical nutrition*, vol. 81, no. 1 Suppl. Am J Clin Nutr, 2005, doi: 10.1093/ajcn/81.1.317s.
- [26] E. Valencia Avilés, I. Figueroa, E. Sosa Martínez, M. Bartolomé Camacho, H. Martínez Flores, and M. García Pérez, “Polifenoles: propiedades antioxidantes y toxicológicas,” pp. 15–29, 2017.
- [27] G. Mercado-Mercado, L. de la R. Carrillo, A. Wall-Medrano, J. A. L. Díaz, and E.

- Álvarez-Parrilla, "Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México," *Nutricion Hospitalaria*, vol. 28, no. 1. Sociedad Española de Nutrición Parenteral y Enteral (SENPE), pp. 36–46, 2013, doi: 10.3305/nh.2013.28.1.6298.
- [28] S. Arranz Martínez, "COMPUESTOS POLIFENÓLICOS (EXTRAÍBLES Y NO EXTRAÍBLES) EN ALIMENTOS DE LA DIETA ESPAÑOLA: METODOLOGÍA PARA SU DETERMINACIÓN E IDENTIFICACIÓN.," UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID, Madrid, 2010.
- [29] S. Martinez-Florez, J. González-Gallego, J. M. Culebras, and J. Tuñón, "Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes," España, 2002. Accessed: Jan. 25, 2021. [Online]. Available: <https://www.researchgate.net/publication/10961859>.
- [30] B. Zhang, J. Cai, C. Q. Duan, M. J. Reeves, and F. He, "A review of polyphenolics in oak woods," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 16, no. 4, MDPI AG, Apr. 01, 2015.
- [31] R. A. Ricco, I. J. Agudelo, and M. L. Wagner, "Métodos empleados en el análisis de los polifenoles en un laboratorio de baja complejidad," *Lilloa*, vol. 52, no. 2, pp. 161–174, 2015.
- [32] J. Aguilar López *et al.*, "Extracción y evaluación de taninos condensados a partir de la corteza de once especies maderables de Costa Rica," *Rev. Tecnol. en Marcha*, vol. 25, no. 4, p. 15, 2012, doi: 10.18845/tm.v25i4.615.
- [33] T. BRITO SOUSA, "USO DE TANINOS DE ESPÉCIES FLORESTAIS NO TRATAMENTO DE ÁGUA PARA ABASTECIMENTO," UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS, 2015.
- [34] C. ALVAREZ and O. Lock de Ugaz, "TANINOS," vol. VI, p. 17, 1992, [Online]. Available: [http://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/download/4619/4606/#:~:text=El método de Lowenthal %5B45,como regulador de la reacción.](http://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/download/4619/4606/#:~:text=El%20m%C3%A9todo%20de%20Lowenthal%20como%20regulador%20de%20la%20reacci%C3%B3n)
- [35] D. Suarez Ospina and Y. Morales Hernández, "PRINCIPIOS BÁSICOS DE LA CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTO RENDIMIENTO PARA LA SEPARACIÓN Y ANÁLISIS DE MEZCLAS BASIC PRINCIPLES OF HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY FOR THE SEPARATION AND ANALYSIS OF MIXTURES," *América Rev. Semilleros Form. Investig.*, vol. 4, 2018.
- [36] R. Fonseca, "FLAVONOIDES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN LA ESPECIE *Ilex guayusa* (Loes)," UNIVERSIDAD POLITECNICA SALESIANA SEDE QUITO, Quito, 2017.
- [37] Gestión de calidad, "Tratamientos," Sep. 2016.
- [38] J. R. Zakaria, Z. A., Boopathy, R., & Dib, *Valorisation of Agro-industrial Residues – Volume I : Biological Approaches*, vol. I. Springer, 2020.
- [39] A. M. Gómez-Bertel, Sandra; Amaya-Buya, Diana; Maldonado-Saavedra,

- Claudia; Martínez-Salgado, María Mercedes; Quevedo-Hidalgo, Balkus; Soto-Guzmán, Ana Bertha; Pedroza-Rodríguez, “Evaluación de tres hongos lignolíticos y de *Aspergillus niger* como alternativa para el tratamiento de aguas residuales del curtido de pieles,” *Rev. Int. Contam. Ambient*, vol. 24, no. 3, pp. 93–106, 2008.
- [40] M. Parzanese, “Fermentación En Sustrato Sólido : Aprovechamiento De Subproductos De La Agroindustria,” *Tecnol. para la Ind. Aliment.*, vol. Ficha N° 2, pp. 1–13, 2016.
- [41] C. Suarez, “Utilización de la fermentación líquida de,” p. 122, 2012.
- [42] O. L. Ramos and F. Xavier Malcata, *Food-grade enzymes*, Third Edit., vol. 3, no. April 2016. Elsevier, 2019.
- [43] E. Hodson de Jaramillo, “Bioeconomía: el futuro sostenible,” *Rev. la Acad. Colomb. Ciencias Exactas, Físicas y Nat.*, vol. 42, no. 164, p. 188, Oct. 2018, doi: 10.18257/raccefyn.650.
- [44] A. Vega, J. A. De León, and S. M. Reyes, “Determinación del Contenido de Polifenoles Totales, Flavonoides y Actividad Antioxidante de 34 Cafés Comerciales de Panamá,” *Inf. Tecnol.*, vol. 28, no. 4, pp. 29–38, 2017, doi: 10.4067/S0718-07642017000400005.
- [45] M. Dias, “APROVEITAMENTO DE RESÍDUOS DO PROCESSAMENTO DE CAFÉ PARA PRODUÇÃO DE CAROTENOIDES POR LEVEDURAS E BACTÉRIAS,” Universidade Federal de Lavras, 2016.
- [46] T. S. Rios *et al.*, “Changes in composition, antioxidant content, and antioxidant capacity of coffee pulp during the ensiling process,” *Rev. Bras. Zootec.*, vol. 43, no. 9, pp. 492–498, 2014, doi: 10.1590/S1516-35982014000900006.
- [47] P. S. Murthy and M. M. Naidu, “Recovery of Phenolic Antioxidants and Functional Compounds from Coffee Industry By-Products,” *Food Bioprocess Technol.*, vol. 5, no. 3, pp. 897–903, Apr. 2012, doi: 10.1007/s11947-010-0363-z.
- [48] E. S. Ordoñez, A. Leon-Arevalo, H. Rivera-Rojas, and E. Vargas, “Quantification of total polyphenols and antioxidant capacity in skins and seeds from cacao (*Theobroma cacao* L.), tuna (*Opuntia ficus indica* Mill), grape (*Vitis Vinifera*) and uvilla (*Pourouma cecropiifolia*),” *Sci. Agropecu.*, vol. 10, no. 2, pp. 175–183, 2019, doi: 10.17268/sci.agropecu.2019.02.02.
- [49] P. S. Murthy, M. Manjunatha, G. Sulochannama, and M. Madhava Naidu, “Extraction, Characterization and Bioactivity of Coffee Anthocyanins,” *Eur. J. Biol. Sci.*, vol. 4, no. 1, pp. 13–19, 2012, doi: 10.5829/idosi.ejbs.2012.4.1.6149.
- [50] M. T. Torres-Mancera *et al.*, “Enzymatic extraction of hydroxycinnamic acids from coffee pulp,” *Food Technol. Biotechnol.*, vol. 49, no. 3, pp. 369–373, 2011.
- [51] D. D. Olani, “Valorization of coffee byproducts via biomass conversion technologies,” Arenberg Doctoral School, 2018.

- [52] C. D. Grande Tovar, *Valoración Biotecnológica De Residuos Agrícolas Y Agroindustriales*. 2016.
- [53] M. A. Quichimbo, “Ensilaje De Pulpa De Café Con La aplicación de aditivos, en el canton loja,.” Universidad nacional de Loja, 2017.
- [54] D. Flórez and E. Rosales, “Uso del ensilaje de pulpa de café en alimentación animal,” *Mundo Fesc*, vol. 15, no. 1, pp. 73–82, 2018.
- [55] D. F. Flórez-Delgado, “Efecto del tiempo de fermentación sobre la calidad nutricional del ensilaje de pulpa de Coffea arabica L.,” *Cienc. Tecnol. Agropecu.*, vol. 21, no. 3, pp. 1–11, Jun. 2020, doi: 10.21930/rcta.vol21\_num3\_art:1423.
- [56] A. L. Orozco *et al.*, “Biotechnological enhancement of coffee pulp residues by solid-state fermentation with Streptomyces. Py-GC/MS analysis,” *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, vol. 81, no. 2, pp. 247–252, 2008, doi: 10.1016/j.jaap.2007.12.002.
- [57] T. López, A. Prado-Barragán, G. V. Nevárez-Moorillón, J. C. Contreras, R. Rodríguez, and C. N. Aguilar, “Incremento de la capacidad antioxidante de extractos de pulpa de café por fermentación láctica en medio sólido,” *CYTA - J. Food*, vol. 11, no. 4, pp. 359–365, 2013, doi: 10.1080/19476337.2013.773563.
- [58] M. A. Arellano-González, M. A. Ramírez-Coronel, M. T. Torres-Mancera, G. G. Pérez-Morales, and G. Saucedo-Castañeda, “Antioxidant activity of fermented and nonfermented coffee (Coffea arabica) pulp extracts,” *Food Technol. Biotechnol.*, vol. 49, no. 3, pp. 374–378, 2011.
- [59] L. Ramírez-Velasco, M. A. Armendáriz-Ruiz, J. Arrizon, J. A. Rodríguez-González, and J. C. Mateos-Díaz, “Liberation of caffeic acid from coffee pulp using an extract with chlorogenate esterase activity of Aspergillus ochraceus produced by solid state fermentation,” *Rev. Mex. Ing. Quim.*, vol. 15, no. 2, pp. 503–512, 2016.
- [60] M. T. Torres-Mancera *et al.*, “Biotransformation and improved enzymatic extraction of chlorogenic acid from coffee pulp by filamentous fungi,” *Biotechnol. Prog.*, vol. 29, no. 2, pp. 337–345, 2013, doi: 10.1002/btpr.1696.
- [61] R. N. Bhoite, P. N. Navya, and P. S. Murthy, “Statistical optimization of bioprocess parameters for enhanced gallic acid production from coffee pulp tannins by penicillium verrucosum,” *Prep. Biochem. Biotechnol.*, vol. 43, no. 4, pp. 350–363, 2013, doi: 10.1080/10826068.2012.737399.
- [62] L. R. P. García, C. R. Biasetto, A. R. Araujo, and V. L. del Bianchi, “Enhanced extraction of phenolic compounds from coffee industry’s residues through solid state fermentation by Penicillium purpurogenum,” *Food Sci. Technol.*, vol. 35, no. 4, pp. 704–711, Oct. 2015, doi: 10.1590/1678-457X.6834.
- [63] NUVÁN VARGAS LAURA NATALIA and ROJAS NARIÑ MELISSA MARGARITA, “EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL TRATAMIENTO PRIMARIO DE AGUA, MEDIANTE EL USO DE UN COAGULANTE OBTENIDO A PARTIR DE RESIDUOS DE CAFÉ,” Fundación Universidad de América, 2018.

- [64] DIAZ GIRON MARILYN YASMIN and ELIAS MARROQUIN GLENDY NOHEMI, "PROPUESTA PARA LA OBTENCION DE UN COLORANTE NATURAL A PARTIR DE LA PULPA SECA DEL *Coffea arabica* (CAFE)," Aug. 2009. <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/2581/1/16100993.pdf> (accessed Jan. 27, 2021).
- [65] B. N. Vilchez and K. Zelmira, "EFECTO DE DOS ABONOS ORGÁNICOS A BASE DE PULPA DE CAFÉ EN EL SUSTRATO Y EL CRECIMIENTO VEGETATIVO DE PLANTONES DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) EN VIVERO," UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO DEL PERÚ, 2011.
- [66] María Teresa Torres Mancera, "OBTENCIÓN DE ÁCIDO CLOROGÉNICO DE LA PULPA DE CAFÉ A PARTIR DE EXTRACTOS ENZIMÁTICOS PRODUCIDOS POR FERMENTACIÓN EN MEDIO SÓLIDO ," UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA UNIDAD IZTAPALAPA, 2013.
- [67] K. H. Kim, R. Tsao, R. Yang, and S. W. Cui, "Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions," *Food Chem.*, vol. 95, no. 3, pp. 466–473, 2006, doi: 10.1016/j.foodchem.2005.01.032.
- [68] F. M. C. Barrera, "DESARROLLO DE UN PROCESO DE FERMENTACIÓN SÓLIDA PARA EL HONGO *Trichoderma asperellum* Th204 EN UN FERMENTADOR DE LECHO FIJO," 2014.
- [69] A. K. Patel, R. R. Singhania, and A. Pandey, "Production, Purification, and Application of Microbial Enzymes," in *Biotechnology of Microbial Enzymes: Production, Biocatalysis and Industrial Applications*, Elsevier Inc., 2017, pp. 13–41.
- [70] S. Del Moral, L. P. Ramírez-Coutiño, M. De, and J. García-Gómez, "Aspectos relevantes del uso de enzimas en la industria de los alimentos," p. 16, 2015, Accessed: Jan. 26, 2021. [Online]. Available: [www.reibci.org](http://www.reibci.org).
- [71] E. F. Peña-Torres *et al.*, "Hydroxycinnamic acids in animal production: Pharmacokinetics, pharmacodynamics and growth promoting effects. Review," *Rev. Mex. Ciencias Pecu.*, vol. 10, no. 2, pp. 391–415, Jun. 2019, doi: 10.22319/rmcp.v10i2.4526.
- [72] D. de B. Richter, N. H. Oh, R. Fimmen, and J. Jackson, "The Rhizosphere and Soil Formation," in *The Rhizosphere*, Elsevier Inc., 2007, pp. 179–200.
- [73] C. Rosales-López, "Los bioprocesos en la biotecnología: uso de biorreactores para la producción y el escalamiento de productos de interés comercial," *Rev. Tecnol. en Marcha*, vol. 32, pp. 41–46, 2019, doi: 10.18845/tm.v32i9.4626.
- [74] L. R. Batista, S. M. Chalfoun de Souza, C. F. Silva e Batista, and R. F. Schwan, "Coffee: Types and Production," in *Encyclopedia of Food and Health*, Elsevier Inc., 2015, pp. 244–251.
- [75] C. M. R. Pérez and R. de los A. Junco, *Cultivo y crecimiento de los microorganismos*, vol. 1. 2001.

- [76] C. De Bolonia, F. Filippini, and C. De Estudios, "Biotecnología enzimática y biotransformaciones de interés industrial," *Univ. Complut. Madrid*, pp. 1–16, 2011.
- [77] Ş. Y. Balaman, "Biomass-Based Production Systems," *Decis. Biomass-Based Prod. Chain.*, pp. 25–54, 2019, doi: 10.1016/b978-0-12-814278-3.00002-9.
- [78] Alejandra P. Rioja Antezana *et al.*, "DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL, FENOLES TOTALES, Y LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA EN UNA BEBIDA NO LÁCTEA EN BASE A GRANOS DE CHENOPODIUM QUINOA," Dec. 2018.
- [79] P. Pietta, M. Minoggio, and L. Bramati, "Plant polyphenols: Structure, occurrence and bioactivity," *Stud. Nat. Prod. Chem.*, vol. 28, pp. 257–312, 2003, doi: 10.1016/S1572-5995(03)80143-6.
- [80] L. V. Peñaranda, S. P. Montenegro, and P. A. Giraldo, "Residuos Agroindustriales," *Rev. Investig. Agrar. y Ambient.*, vol. 8, no. 2, pp. 141–150, 2018.

## GLOSARIO

**ÁCIDOS ORGÁNICOS:** son compuestos químicos proveniente de procesos como fermentaciones, purificaciones, extracciones de diversas fuentes ya sea natural o sintética, estos se encuentran ampliamente desde grupos carboxílicos hasta grupos fenólicos.[72]

**APROVECHAMIENTO:** métodos o procesos alternativos para disminuir cantidad orgánica o residuos en general, los cuales producen un impacto ambiental negativo, por ello estos procedimientos permiten reducir la inadecuada disposición final y mitigar la contaminación.

**BIOPROCESO:** es aquel proceso en el cual se emplean organismos vivos o parte de ellos para obtener productos de interés industrial.[73]

**COFFEA ARÁBICA:** es un arbusto originario del suroeste de Etiopía y sureste de Sudan. Actualmente representan el 80% de producción mundial dada las características organolépticas como sabor y aromas suaves [74].

**CULTIVO DE MICROORGANISMOS:** es la propagación de los microorganismos, proporcionando condiciones adecuadas para su crecimiento como factores nutricionales y factores físicos.[75]

**ENZIMAS:** son moléculas que actúan como catalizadores biológicos, las cuales se obtiene de microorganismos como bacteria, hongo o levaduras cultivado en fermentadores, son competitivas y eficaces en la biotransformación de compuesto por lo cual crean un interés industrial.[76]

**FERMENTACIÓN:** este proceso consta del empleo de una variedad de microorganismos como bacterias, hongo y levaduras, que producen enzimas capaces de catalizar diversas reacciones químicas para obtener biocompuestos. [77]

**METODO FOLIN-CIOCALTEU:** análisis que se realiza para determinar los compuestos fenólicos presentes en un medio, se utiliza el reactivo Folin-Ciocalteu el cual consta de

una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico, permitiendo la captación de los grupos fenólicos por espectrofotometría.[78]

**POLIFENOLES:** son metabolitos secundarios presentes en las plantas se clasifican actualmente en al menos 10 clase diferentes según su estructura química la cual consta de la unión de varios anillos fenólicos. Se presentan en moléculas simples hasta los polimerizados. [79]

**RESIDUOS AGROINDUSTRIALES:** son desechos que dado el desarrollo industrial de los países incrementan generando una problemática ambiental y económica, ya que los costos en su disposición son altos, lo cual terminan en rellenos sanitarios, incinerados o en vertimiento a fuentes hídricas y suelo. [80]

**TROLOX:** es una sustancia utilizada para medir la capacidad antioxidante de mezclas complejas, expresado en mg de trolox/g de la sustancia utilizada, normalmente se emplea en el ensayo de capacidad de reducción férrica de plasma (FRAP) utilizando este compuesto como estándar.[78]