

Extracción y caracterización de pectina de pulpa de café de la variedad Robusta

Extraction and characterization of coffee pulp pectin from Robusta variety

***Dr. C. Manuel Serrat-Díaz^I, Ing. Ángel Daniel De la Fé-Isaac^{II},
Lic. José Alberto De la Fé-Isaac^{III}, Lic. Cristóbal Montero-Cabrales^{IV}***
mserrat@uo.edu.cu

^I Centro de Estudios de Biotecnología Industrial, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba; ^{II} Centro Universitario Municipal Palma Soriano, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba; ^{III} UEB Derivados, CAI “Dos Ríos”, Palma Soriano, Santiago de Cuba, Cuba; ^{IV} Centro Universitario Municipal San Luis, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba.

Recibido: 6 de marzo de 2018

Aprobado: 7 de mayo de 2018

Resumen

En este trabajo se estudió la extracción de pectina a partir de pulpa de café fresca y secada al sol, procedente de frutos de café Robusta (*Coffea canephora*). Para ello, se evaluó la influencia de la temperatura, el tiempo de extracción, el pH y la razón líquido-sólido sobre el rendimiento de la extracción. El pH fue el único factor que influyó significativamente en la extracción, alcanzándose los mejores resultados a pH 1. Se obtuvieron rendimientos de 5,91% y 4,99 % para las pulpas fresca y seca, respectivamente. Las pectinas extraídas de las pulpas fresca y seca presentaron, respectivamente, 82,1 % y 87,8 % de ácido galacturónico y masas molares promedio en número de 10 500 g/mol y 11 600 g/mol. El secado solar de la pulpa de café no influyó de forma apreciable sobre el rendimiento de extracción, ni en la calidad de las pectinas obtenidas.

Palabras clave: pectina, pulpa de café, secado solar, *Coffea canephora*.

Abstract

In this work, the extraction of pectin from fresh and sun-dried coffee pulps from Robusta coffee (*Coffea canephora*) was studied. For this, the influence of temperature, extraction time, pH and liquid-solid ratio on the extraction performance were evaluated. The pH was the only factor that significantly influenced the extraction, reaching the best results at pH 1. Yields of 5,91 % and 4,99 % were obtained for the fresh and dry pulps, respectively. The pectin extracted from the fresh and dried pulps presented, respectively, 82,1 % and 87,8 % of galacturonic acid and number average molar weights of 10 500 g/mol and 11 600 g/mol. The solar drying of the coffee pulp did not influenced appreciably on the extraction performance, as well as on the quality of the pectins obtained.

Keywords: pectin, coffee pulp, sun dried, *Coffea canephora*.

Introducción

En la actualidad el café es uno de los cultivos de mayor importancia a nivel mundial. El valor bruto de la industria total asociada al comercio del café se estima en 173,4 miles de millones de dólares [1], cifra superada únicamente por el petróleo en lo que se refiere a exportaciones de materia prima a escala mundial. En Cuba, la producción de café constituye un renglón fundamental en la agricultura de montaña, siendo las provincias de Santiago de Cuba, Guantánamo y Granma las principales productoras.

En la cosecha cafetalera 2013-2014 se despulparon en nuestro país 2 577 toneladas de café de variedades de la especie *Coffea arabica* y 477 toneladas de la variedad Robusta (*C. canephora*) [2], lo que representó unas 1 200 toneladas de pulpa como desecho, teniendo en cuenta que esta constituye aproximadamente el 40 % en peso del fruto del café en base húmeda y el 29 % en base seca [3-5]. Este residuo agroindustrial se ha convertido en uno de los principales problemas medioambientales en las zonas donde se produce, debido a su alto contenido de azúcares fermentables y a su escasa y deficiente utilización [5, 6].

Diversos estudios han demostrado la factibilidad de utilizar la pulpa de café para múltiples fines, entre los que se destacan: como suplemento alimenticio de animales, producción de biocombustibles como bioetanol, fabricación de abono orgánico y obtención de pectinas [7-10].

La pectina es un polisacárido complejo, constituido principalmente por ácido galacturónico, el cual se encuentra presente en los tejidos de las plantas superiores [11]. Debido a sus propiedades gelificantes y de absorción es muy utilizado en las industrias alimentaria, cosmética y farmacéutica [12]. Los geles de pectina son importantes para crear o modificar la textura de compotas, jaleas, salsas, mayonesas y confites. También son usados en la industria láctea para la fabricación de yogurt de fruta y productos lácteos bajos en grasa [13]. La pectina, debido a sus efectos beneficiosos en la salud, se emplea como ingrediente en preparaciones farmacéuticas como antidiarreicos y desintoxicantes; algunas drogas son encapsuladas con una película de pectina para proteger la mucosa gástrica. En la industria cosmética la pectina es utilizada en formulaciones de pastas dentales, ungüentos, aceites, cremas, desodorantes, tónicos capilares, etc., por sus propiedades suavizantes y estabilizantes [13].

Las principales fuentes de pectina comercial son la pulpa de manzana y las cáscaras de cítricos. Para la pulpa de café procedente de frutos de la especie *C. arabica* se ha

informado aproximadamente un 5,5 - 6,5 % en peso (base seca) de sustancias pécticas [5, 6, 14], pero no se tiene información acerca de la especie *C. canephora*, debido a que esta se beneficia mayormente por vía seca [15].

Para el desarrollo de esta investigación se tomó como premisas el impacto ambiental que ocasiona la pulpa de café en las zonas donde se genera y su elevado contenido de pectina, el valor económico de esta última, a la vez que el poco conocimiento que se tiene de las pectinas de café de la variedad Robusta. El artículo informa acerca de la caracterización de pectinas de las pulpas de café fresca y secada al sol, correspondientes a esta variedad, obtenidas mediante extracción en medio ácido.

Materiales y métodos

Colecta del residual del beneficiado húmedo del café

El residual, conformado por una mezcla de pulpa y suspensión de mucílago, se colectó en el mes de diciembre del 2015 en la despulpadora ecológica “Taza de Oro”, perteneciente al municipio Palma Soriano, provincia Santiago de Cuba.

El residual corresponde al procesamiento de frutos de café de la especie Robusta. Antes de colectarlo, se esperó a que transcurrieran aproximadamente 30-40 min del proceso de despulpe y se tomó inmediatamente después de producido por la máquina despulpadora-desmucilagadora, antes de caer a la caja de cáscara. Se guardó en congelación (-20 °C) en un recipiente plástico con tapa, hasta la realización de los ensayos.

Preparación de las muestras

El residual se dejó a temperatura ambiente hasta su completa descongelación y luego se procedió a separar la pulpa de la suspensión del mucílago mediante decantación, dejando escurrir bien la pulpa en un embudo Büchner. Se pesaron y separaron dos muestras representativas (método de cuarteo) de pulpa húmeda, de aproximadamente 2 Kg; una de estas se puso a secar al sol durante 72 h y la otra se conservó en congelación (-20 °C). La pulpa secada al sol se conservó en una bolsa de polietileno sellada herméticamente, la cual se colocó en un lugar seco y fresco, protegido de la incidencia directa de los rayos del sol.

Determinación del contenido de materia seca y humedad en las pulpas fresca y secada al sol

En cápsulas de porcelana previamente taradas se pesaron (peso exacto) porciones de unos $20 \pm 0,001$ g de la pulpa fresca y $10 \pm 0,001$ g de la pulpa secada al sol. Las cápsulas se colocaron en una estufa a 105 ± 3 °C y las muestras se dejaron secar hasta peso constante. Se emplearon cuatro réplicas en cada determinación. El contenido de materia seca se expresó como % (m/m), o sea, gramos de sólidos presentes en 100 g de pulpa. El contenido de humedad se asumió igual a la masa perdida durante el secado a 105 °C y se expresó en % (m/m); el mismo se calculó por diferencia (100 - % materia seca) [16].

Extracción de pectina de la pulpa fresca

Diseño experimental

Con el objetivo de encontrar un entorno óptimo para la extracción de pectina de la pulpa fresca, se utilizó un diseño de cribado consistente en un diseño factorial fraccional de media fracción, con cuatro factores en dos niveles y tres puntos centrales, para un total de 11 extracciones. Los factores y niveles evaluados fueron: temperatura (60 y 90 °C), tiempo de extracción (40 y 90 min), concentración de iones hidrógeno (pH 3 y 1) y razón líquido/sólido (RLS) (5 y 7 ml/g). Los niveles de los factores en el punto central fueron: 75 °C, 60 min, pH 1,3 y razón líquido-sólido 6 ml/g. En todos los experimentos se partió siempre de la misma masa de pulpa fresca (100 g). Para la creación y posterior análisis del diseño experimental se utilizó el programa estadístico Statgraphics Centurion XV (Stat Point, Inc.; USA).

Extracción de pectina en medio ácido

Se pesaron unos 100 g ($\pm 0,001$ g) de la pulpa húmeda y se llevaron a un frasco Erlenmeyer de 1 L de capacidad. Se midió entonces el volumen necesario de agua destilada para obtener la razón líquido-sólido deseada y se añadió HCl (conc.) gota a gota hasta obtener el valor de pH correspondiente a cada ensayo. Luego se añadió el agua acidulada a la pulpa y se colocó el frasco en un baño termostatado, ajustado a la temperatura correspondiente, según cada caso. La suspensión se homogenizó mediante agitación constante durante el tiempo establecido, de acuerdo con el diseño experimental. Después, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se centrifugó durante 5 min a $8\,000\text{ min}^{-1}$. Se midió el volumen total de extracto con una probeta y entonces se tomó una alícuota de 100 ml y se conservó en congelación en un frasco de vidrio, para su posterior análisis del contenido de pectina por el método gravimétrico.

Determinación de la influencia de las condiciones de extracción sobre el rendimiento

Una vez determinada la concentración de pectina en los extractos correspondientes a los 11 experimentos realizados, se calculó el rendimiento de extracción en base al contenido de materia seca de la pulpa de café. Con ayuda del programa Statgraphics Centurion se realizó el análisis estadístico de la influencia de las variables experimentales en la extracción de pectina; para esto se utilizó un diagrama de Pareto estandarizado, empleando un nivel de significación del 5 % y considerando solo los efectos principales.

Extracción y caracterización de las pectinas de las pulpas fresca y seca bajo las condiciones del entorno óptimo

La extracción se realizó siguiendo el mismo procedimiento utilizado en los ensayos antes descritos, pero ajustando las variables experimentales a las condiciones correspondientes al entorno óptimo encontrado para la pulpa fresca. Se emplearon para la extracción 100 g de pulpa fresca y en el caso de la pulpa seca se partió de una masa tal que contuviera la misma cantidad de materia seca que la existente en 100 g de pulpa húmeda, completando la masa a 100 g mediante la adición de agua destilada. Ambas extracciones se realizaron por triplicado y los extractos se conservaron en congelación hasta su posterior análisis.

Del volumen y contenido gravimétrico de pectina en los extractos se determinó el rendimiento de las extracciones con respecto al contenido de masa seca en la pulpa.

Para la caracterización química de las pectinas extraídas, se realizó primero la precipitación de estas con etanol. Para ello, se midieron 200 ml del extracto de pectina y se le añadieron 2 volúmenes de alcohol al 96 % (v/v). Se dejó sedimentar el precipitado en frío (4 °C) durante 24 h. Luego se centrifugó durante 20 min a $7\,500\text{ min}^{-1}$, se lavó el sólido con alcohol al 75 % (v/v) primero y con alcohol al 96 % (v/v) después, se centrifugó durante 10 min a $5\,000\text{ min}^{-1}$ y se secó el sólido en estufa a 45 °C hasta peso constante. Se dejó enfriar a temperatura ambiente en una desecadora y finalmente se pesó en balanza analítica para determinar el recobrado de pectina durante la precipitación alcohólica [17].

Los sólidos correspondientes a las pectinas de pulpa fresca y seca se disolvieron, cada uno, en aproximadamente 40 ml de agua caliente, se dejaron enfriar las soluciones a

temperatura ambiente y se trasvasaron cuantitativamente a matraces aforados de 50 ml, completándose los correspondientes volúmenes con agua destilada.

Las pectinas se caracterizaron en cuanto a sus contenidos de ácido galacturónico y azúcares neutros, grado de esterificación (como medida del contenido de éster metílico en el ácido galacturónico) y masa molecular promedio en número.

Determinaciones analíticas

La estimación del contenido de sustancias pécticas totales en los extractos se realizó por el método gravimétrico, luego de efectuada la desesterificación alcalina de las pectinas y su posterior precipitación con iones calcio [18].

El contenido de ácido galacturónico se determinó mediante el ensayo colorimétrico del carbazol [19], modificado con la inclusión del tratamiento de las muestras con sulfamato ácido de potasio, para reducir la interferencia por azúcares neutros [20]. La absorbancia se leyó a 525 nm contra un blanco de reactivo. Para la cuantificación se utilizó una curva de calibración de ácido galacturónico (Sigma) a concentraciones entre 20 y 100 $\mu\text{g/ml}$.

Los contenidos de azúcares neutros y azúcares reductores se determinaron según el método de la antrona [21] y la variante libre de arsénico del procedimiento de Somogyi-Nelson descrita por Anthon [17], respectivamente. Se utilizaron en ambos ensayos curvas de calibración de glucosa a concentraciones de 20-100 $\mu\text{g/ml}$.

El grado de esterificación del ácido galacturónico en la pectina se determinó a partir del consumo de base durante la hidrólisis alcalina de los éster metílicos de la pectina, siguiendo el procedimiento descrito por Schultz [22]. Para ello se tomaron dos partes alícuotas de 5 ml de la solución de pectina a ensayar y se llevaron a sendos frascos Erlenmeyer, uno rotulado con la letra E (carboxilos esterificados) y otro con la letra T (carboxilos totales); 10 ml de agua destilada se adicionaron a otro Erlenmeyer rotulado con la letra C (control). A los frascos E y T se les añadieron 5 ml de agua destilada. Al frasco E se le añadió entonces, con una bureta y gota a gota, NaOH 0,1 mol/l hasta pH 7,5, el cual debió permanecer estable durante 30 s, anotándose el volumen de hidróxido de sodio consumido. Entonces se añadieron 2 ml de NaOH 0,5 mol/l a todos los frascos y se esperó 30 min. Por último, se valoró potenciométricamente el contenido de iones hidroxilo residuales con una solución estándar de HCl 0,05 mol/l hasta pH 7,5, el cual debió permanecer estable durante 30 s. La diferencia entre el volumen de HCl consumido por el control y el consumido por los

frascos E y T corresponde a los contenidos de grupos carboxilo esterificados y totales, respectivamente.

El grado de esterificación (GE) en las pectinas se calculó según la siguiente expresión:

$$GE (\%) = \frac{\text{moles de grupos carboxilo esterificados}}{\text{moles de grupos carboxilo totales}} \cdot 100$$

Determinación de la masa molar promedio en número de la pectina

La masa molar promedio en número de la pectina se determinó por el método de análisis de grupos terminales, a través de la determinación de la concentración molar de extremos reductores según el método de Somogy-Nelson modificado [17]. La masa molar se calculó de la relación entre las concentraciones másica (C_m) y molar (C_M) de las soluciones de pectina, según:

$$M_n = C_m / C_M.$$

La concentración molar se asumió igual a la concentración de extremos reductores (grupo terminal).

Resultados y discusión

Determinación del contenido de materia seca y humedad en la pulpa de café

En la tabla 1 puede observarse que la pulpa de café fresca de café Robusta usada en este estudio presentó valores de los contenidos de materia seca y humedad muy similares a los encontrados por otros autores [5, 6, 23, 24], lo que sugiere que estos parámetros son poco afectados por las condiciones edafoclimáticas propias de cada país y región. El elevado contenido de humedad (83,6 %), unido a su alto contenido de azúcares simples y compuestos nitrogenados solubles en agua, referidos para este residual, lo convierten en un material muy susceptible a la descomposición microbiana. Estos elementos constituyen la base de su alto poder contaminante [5, 6, 24].

TABLA 1. CONTENIDOS DE MATERIA SECA Y HUMEDAD EN LAS PULPAS FRESCA Y SECADA AL SOL

Pulpa	Materia seca (%)	Humedad (%)
Fresca	16,4 ± 0,5	83,6 ± 0,5
Secada al sol	94,0 ± 0,2	6,0 ± 0,2

El secado solar de la pulpa de café es un procedimiento ambientalmente amigable, barato y factible de ser empleado en las condiciones existentes en las despulpadoras de

café. En este estudio se consiguió reducir el contenido de humedad a un 6 %. Con esto se logra estabilizar el residual, evitando su descomposición y facilitando su almacenaje y transportación, aspectos estos de gran importancia si se piensa en el empleo de este residual como materia prima para otros usos.

Extracción de pectina de la pulpa fresca

De las 11 variantes ensayadas, el mejor rendimiento alcanzado fue de 8,73 %, el cual correspondió al ensayo no. 11, cuyas condiciones fueron pH 1, temperatura 90 °C, 90 min de extracción y una razón líquido/sólido igual a 7 ml/g de pulpa húmeda (tabla 2).

TABLA 2. RENDIMIENTO DE LAS EXTRACCIONES DE PECTINA

Extracción	T (°C)	Tiempo (min)	pH	RLS ¹ (ml/g)	Rendimiento (%)
1	60	40	1	7	2,82
2	60	40	3	5	0,32
3	60	90	3	7	0,25
4	60	90	1	5	5,04
5	75	65	1,3	6	6,97
6	75	65	1,3	6	5,35
7	75	65	1,3	6	6,16
8	90	40	1	5	5,27
9	90	40	3	7	0,55
10	90	90	3	5	2,11
11	90	90	1	7	8,73

¹ Razón líquido/sólido empleada en la extracción

El análisis estadístico de los resultados experimentales, expresado mediante un diagrama de Pareto estandarizado (figura 1) mostró que el único factor con influencia significativa ($p < 0,05$) en el rendimiento de la extracción fue la concentración de iones hidrógeno (pH). La temperatura y el tiempo de extracción, aunque bajo las condiciones de este estudio no mostraron un efecto estadísticamente significativo ($p > 0,05$) fueron, después del pH, los factores más importantes a considerar, ambos con una contribución positiva al rendimiento de la extracción. La relación líquido-sólido, para los niveles

evaluados, resultó el factor menos relevante y los resultados sugieren que el mismo puede obviarse en posteriores experiencias de optimización.

Yapo *et al.* [11] encontraron, en su estudio sobre la obtención de pectina de pulpa de remolacha azucarera, que el pH era el factor con mayor influencia en el rendimiento de la extracción, siendo mejor el rendimiento a pH 1,5 que a pH 2. En esta misma investigación, el tiempo de extracción resultó también un factor relevante, resultados estos que se corresponden con los observados en el presente trabajo.

El rendimiento de la extracción (R), expresado en tanto por ciento (%) se ajustó a la siguiente ecuación de regresión:

$$R = -5,594 + 0,069 \cdot T + 0,036 \cdot t + 47,05 \cdot c(H^+) - 0,050 \cdot RLS$$

donde:

T es la temperatura, expresada en °C

T: el tiempo de extracción en minutos

$c(H^+)$: la concentración de iones hidrógeno en mol/l

RLS: la razón líquido/sólido en ml/g

Esta ecuación permite explicar el 68,7 % de la variabilidad observada en el rendimiento. De este análisis se infiere que el error experimental tuvo una contribución importante a la variabilidad observada, lo cual sugiere incrementar número de puntos centrales en posteriores diseños para minimizar la contribución del error a la variabilidad. No obstante, más de las dos terceras partes de la variación observada es explicada por el modelo, lo que permite realizar predicciones del rendimiento con un margen de error de alrededor del 30 %, lo que para un experimento de cribado (exploratorio), como es el caso, resulta aceptable y útil para ulteriores experimentos de optimización.

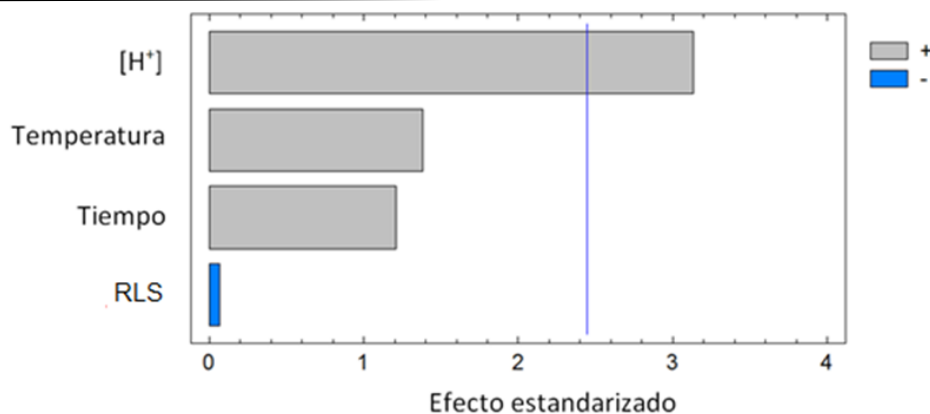


Fig. 1. Diagrama de Pareto estandarizado para el rendimiento de extracción

El tiempo óptimo de extracción sugerido por el modelo fue de 90 min pero, teniendo en cuenta que este factor no influyó significativamente ($p > 0,05$) en el rendimiento de extracción, en los experimentos posteriores se fijó su valor a 70 min.

Extracción y caracterización de la pectina de la pulpa de café extraída bajo las condiciones del entorno óptimo

A los extractos obtenidos de las pulpas fresca y seca se les determinó el contenido de pectina gravimétricamente por dos métodos diferentes, (1) el de Ranganna [18], basado en la precipitación de la pectina con iones calcio y que se utiliza como método analítico cuantitativo y (2) mediante la precipitación con etanol, el cual se utiliza de forma habitual en los procesos de obtención de pectinas a escala industrial y que también es utilizado como primera etapa en los análisis cuantitativos de sustancias pécticas, durante la obtención de los llamados “sólidos insolubles en alcohol” [17]. Esto se efectuó con el objetivo de determinar la eficacia de la precipitación alcohólica para la recuperación de la pectina de café extraída bajo las condiciones establecidas en esta investigación, teniendo en cuenta que el preparado de pectina así obtenido no requeriría de ulteriores tratamientos para remover los iones de calcio, además de que en las condiciones de Cuba, el uso del etanol 96 % (v/v) resulta factible económicamente. En la tabla 3 se presentan los recobrados de pectina de las extracciones realizadas para las pulpas fresca y seca, según los diferentes métodos de precipitación utilizados.

Para las extracciones de pectina de la pulpa de café secada al sol, se obtuvo un recobrado en la precipitación alcohólica que no difiere estadísticamente de la precipitación cuantitativa con iones calcio luego de una desesterificación completa de la pectina [18]. Sin embargo, en el caso de la pectina extraída de la pulpa fresca el recobrado en la precipitación alcohólica fue significativamente menor ($p < 0,05$),

quedando sin precipitar bajo las condiciones utilizadas alrededor de un 30 % de las sustancias pécticas presentes en el extracto.

No obstante, a la pulpa fresca corresponde también un mayor rendimiento de pectina, lo cual pudiera estar relacionado con la actividad metabólica asociada a los microorganismos presentes en el residual durante el proceso de secado, el cual se extendió por un período de 72 h. El rendimiento de pectina obtenido para la pulpa húmeda, luego de su recuperación mediante precipitación con iones calcio, resultó similar a los mejores resultados obtenidos en el Experimento no. 11 del diseño experimental, lo cual corroboró la validez de las condiciones de entorno óptimo sugeridas por el modelo de regresión derivado del diseño factorial fraccional utilizado.

TABLA 3. RENDIMIENTO DE LAS EXTRACCIONES DE PECTINA PARA PULPA FRESCA Y SECADA AL SOL

Método de precipitación	Rendimiento (%) ^a	
	pulpa seca	pulpa fresca
Con iones Ca ²⁺	5,04 ± 0,67 ^c	8,41 ± 1,11 ^a
Con etanol	4,99 ± 0,66 ^c	5,91 ± 0,78 ^{b,c}

^a Rendimiento en base seca; Letras diferentes corresponden a diferencias estadísticamente significativas (p<0.05)

Los recobrados de pectina de café mediante la precipitación con etanol resultaron inferiores a los informados por diversos autores para otros subproductos agroindustriales. Por ejemplo, Yapó *et al.* [11] obtuvieron el 16,2 % para pectina de pulpa de remolacha azucarera y Guidi *et al.* [25] el 8,59 % para pectina de maracuyá, lo cual pudiera deberse a un menor contenido de sustancias en la pulpa de café con respecto a estos subproductos. Sin embargo, los rendimientos obtenidos en este estudio fueron similares al 6,8 % referido en la invención de Otalora y Belalcazar [26], relacionada con el desarrollo de una metodología de extracción de pectina de pulpa de café.

Teniendo en cuenta los resultados alcanzados para la extracción de pectina de la pulpa de café Robusta, se puede estimar que de utilizarse para este fin toda la pulpa de café generada en un año en Cuba, se podría obtener unas 100 toneladas de este valioso producto. Esto tendría una notable repercusión en la economía del proceso del

beneficiado del café, que con solo adicionar la operación de secado lograría valiosos ingresos de la venta de la pulpa seca como materia prima para la extracción de pectinas.

Caracterización de las pectinas extraídas

En la tabla 4 se presenta la composición química esencial de las pectinas extraídas de las pulpas de café fresca y secada al sol, bajo las condiciones óptimas establecidas en este trabajo.

Los contenidos de ácido galacturónico en ambas pectinas son similares y superiores al 80 %. Estos resultados demuestran que las pectinas extraídas tienen una buena calidad y pureza, ya que el contenido de ácido galacturónico es proporcional a la presencia de homogalacturonano, que es el principal componente de los preparados de pectina y del cual derivan sus propiedades funcionales más importantes desde el punto de vista de sus aplicaciones [27, 28]. Por otro lado, este resultado concuerda con el hecho de que durante las extracciones bajo condiciones fuertemente ácidas, como es el caso, se produce la remoción de una gran parte de los azúcares neutros, principalmente de aquellos asociados a las cadenas laterales en las regiones peludas de la pectina [29].

El contenido de ácido galacturónico observado es algo inferior a los informados por ICAITI [30], de 97,72 % y 91,19 %, para pectinas obtenidas a partir de pulpa de café perteneciente a frutos de la especie *Coffea arabica*. En esta investigación se trata de pulpa de café de frutos de *Coffea canephora*, lo que podría explicar estas diferencias, ya que se trata de especies distintas y, por tanto, de fisiologías diferentes.

TABLA 4. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LAS PECTINAS DE PULPA FRESCA Y SECADA AL SOL

	pulpa seca	pulpa fresca
Ácido galacturónico (%)	87,8 ± 3,69	82,1 ± 2,78
Azúcares neutros (%)	10,9 ± 0,24	16,0 ± 0,34
Grado de esterificación (%)	81 ± 7,8	29 ± 2,4
Masa molar promedio en número (g/mol)	11 600 ± 77	10 500 ± 82

Otro parámetro importante en la caracterización de la pectina es el contenido de azúcares neutros, los cuales forman parte de las llamadas regiones “peludas” de estas moléculas, conformadas por los ramnogalacturonanos I y II. Ambas pectinas presentaron contenidos de estos azúcares inferiores al 20 %, lo cual concuerda con los resultados obtenidos para el ácido galacturónico, ya que la suma de los porcentajes de

azúcares neutros y ácido galacturónico debe aproximarse al 100 %, en un preparado de pectina libre de sustancias no-azúcares, como restos de proteínas y compuestos fenólicos [11, 31].

El grado de esterificación o contenido de éster metílico en las pectinas es un parámetro que afecta sensiblemente las propiedades técnicas de las pectinas, tales como su solubilidad, poder gelificante y fortaleza del gel. Las pectinas con altos grados de gelificación (> 80 %) dan geles firmes en presencia de altas concentraciones de azúcares, en tanto las de bajo grado de esterificación gelifican con mayor facilidad en presencia de iones bivalentes y son menos solubles en agua. Como puede observarse en la Tabla 4, los valores obtenidos para este parámetro difieren de forma considerable entre ambas pectinas. Los valores informados para pectinas de café se encuentran usualmente alrededor del 23-24 % [30], lo que se corresponde muy bien con lo obtenido en este trabajo para la pectina extraída de la pulpa húmeda (29,0 %). Debe señalarse que los resultados antes referidos corresponden también a muestras de pulpa fresca. De igual modo, la acción enzimática y microbiana durante el proceso de secado podría estar incidiendo en los resultados observados, aspecto este que requiere ser corroborado con estudios posteriores.

Otro aspecto que requiere ser considerado es que el método utilizado no es específico para la detección de éster metílico, sino ésteres en general; de modo que la presencia de acetilación en las posiciones C2 y C3 de los grupos hidroxilo libres de las unidades de ácido galacturónico sería determinada simultáneamente, obteniéndose sobreestimaciones del contenido real de éster metílico. La acetilación de las pectinas es también frecuente y este proceso podría estar ocurriendo como parte de las transformaciones acaecidas durante el secado de la pulpa de café.

El grado de esterificación observado para la pulpa fresca fue inferior a 50 %, por lo que podemos clasificar a la pectina extraída como una pectina de bajo metoxilo [11]. La masa molar promedio en número de las pectinas obtenidas de pulpa húmeda y seca estuvo entre los 10 000-12 000 g/mol, algo inferiores a los referidos por ICAITI [30], que fue de aproximadamente 15 800-22 300 g/mol. Las condiciones fuertemente ácidas y la elevada temperatura empleadas en las extracciones, durante un tiempo relativamente prolongado, pudo haber ocasionado cierto grado de hidrólisis en estas macromoléculas, disminuyendo así su grado de polimerización. No obstante, debe señalarse que los valores promedio obtenidos por el método empleado (análisis de

grupos terminales) son afectados por igual por todas las moléculas presentes, grandes y pequeñas, pero las propiedades de interés técnico son determinadas por las moléculas de mayor tamaño. Esto indica la necesidad de evaluar la masa molar promedio por algún otro método que permita determinar la masa molar promedio en peso, como podría ser el método viscosimétrico.

Conclusiones

Se demostró la factibilidad técnica de obtener pectina a partir de pulpa de café fresca y secada al sol, procedente de frutos de la variedad Robusta, mediante extracción en medio ácido con el empleo de ácido clorhídrico. El pH fue la única variable con influencia significativa en el rendimiento de la extracción, alcanzándose los mejores resultados a pH 1. Los resultados demostraron que el secado solar de la pulpa de café no influyó apreciablemente sobre la calidad de la pectina. El estudio realizado permite proponer la extracción de pectina una alternativa atractiva para la valorización de este residual y la reducción de su impacto ambiental.

Referencias bibliográficas

1. ICC (International Coffee Council). “World coffee trade (1963 – 2013): A review of the markets, challenges and opportunities facing the sectors” en International Coffee Council, 112^a Sesión, Londres, Reino Unido, 3 – 7 Marzo de 2014.
2. OPCIONES, Semanario Económico y Financiero de Cuba. “Cuba incentiva el rescate de la producción cafetalera”. Tomado de: <http://www.opciones.cu/cuba/2014-06-12/>, junio de 2014. Consultado: febrero de 2018.
3. TAUK, S. M. “Estudo de composição da polpa de café a 45°C a través do uso de microorganismos isolados da polpa”. *Turrialba*. 1986, 136, 271-280. ISSN: 0041-4360.
4. BRESSANI, R. *et al.* “Pulpa y pergamino de café, I. Composición química y contenido de aminoácidos de la proteína de la pulpa”. *Turrialba*. 1972, 22, 299-304. ISSN: 0041-4360.
5. ELÍAS, L. G. “Composición química de la pulpa de café y otros subproductos”. En: BRAHAM, J. E.; BRESSANI, R. (Editores). *Pulpa de café: composición*,

- tecnología y utilización*. Bogotá: Centro Internacional de Investigaciones para el desarrollo, 1978. ISBN: 9780889361904.
6. SILVA, C. F. *et al.* "Evaluation of a potential starter culture for enhance quality of coffee fermentation". *World J Microbiol Biotechnol.* 2013, 29, 235–247. ISSN: 0959-3993.
 7. BRESSANI, R. "Posibles usos de los subproductos del grano de café". *En: BRAHAM, J. E.; BRESSANI, R. (Editores). Pulpa de café: composición, tecnología y utilización*. Bogotá: Centro Internacional de Investigaciones para el desarrollo, 1978, 31-43. ISBN: 9780889361904.
 8. CABRERA, S.;ROLZ,C. *Producción de proteína microbiana a partir de subproductos de industrias agropecuarias*. Monografías ICAITI. Guatemala: ICAITI, 1980, 13-16.
 9. CARMO, J. *Produção de Etanol e Pectinase por Kluyveromyces marxianus CCT 4086 utilizando resíduos do processamento do Café (Coffea arabica L.)*. Tesis Doctoral, Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, Brasil, 2013.
 10. DAS, A.; VENKATACHALAPATHY, N. "Profitable exploitation of coffee pulp- a review". *International Journal of Applied and Natural Sciences.* 2016, 5 (1), 75-82. ISSN: 2319-4014.
 11. YAPO, B. M.*et al.* "Efect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts". *Food Chemistry.* 2007, 100, 1356-1364. ISSN: 0308-8146.
 12. ZAIDEL, D. N. A.; MEYER, A. S. "Oxidative enzymatic gelation of sugar beet pectin for emulsion stabilization". *Research Journal of Biotechnology.* 2013, 8 (7), 81-86. ISSN: 2278-4535.
 13. SILVA, N. C. *et al.* "Extracción y caracterización de pectinas obtenidas a partir de frutos de la biodiversidad peruana". *Ingenieria Industrial.* 2008, 26, 175-199. ISSN 1815-5936.
 14. GATHUO, B.*et al.* "Coffee industry wastes". *Water Science Technology.* 1991, 24 (1), 53-60. ISSN: 0273-1223.

15. ADAMS, M. R.; DOUGAN, J. "Green coffee processing". En R. J. Clarke y R. Macrae(Editores). *Coffee. Volume 2: Technology*. New York, NY: Elsevier Science Publishers, 1987, 257–291. ISBN: 978-94-010-8028-6.
16. AOAC. *Official Methods of Analysis*. 16^a ed. Arlington, VA, EEUU: Association of Official Analytical Chemists, 1994. ISBN: 0935584544.
17. ANTHON, G. E.; BARRETT, D. M. "Combined enzymatic and colorimetric method for determining the uronic acid and methylester content of pectin: Application to tomato products". *Food Chemistry*. 2008, 110, 239–247. ISSN: 0308-8146.
18. RANGANNA, S. *Manual of Analysis of Fruit and Vegetable Products*. New Delhi: Tata McGraw-Hill Publ Co Ltd., 1979. ISBN: 9780074518519.
19. BITTER, T. "A modified uronic acid carbazole reaction". *Anal. Biochem*. 1962, 4, 330-334. ISSN: 0003-2697.
20. GALAMBOS, J. T. "The reaction of carbazole with carbohydrates: I. Effect of borate and sulfamate on the carbazole color of sugars". *Analytical Biochemistry*, 1967, 19 (1), 119-132. ISSN: 0003-2697.
21. HODGE, J. E.; HOFREITER, B. T. "Determination of reducing sugars and carbohydrates". En: Whistler, R. L.; Walfron M. L. (Eds.), *Methods of Carbohydrate Chemistry*. New York: Academic Press, 1962, 380-394. ISBN: 0127462066.
22. SCHULTZ, T. H. "Determination of the degree of esterification of pectin, determination of the ester methoxyl content of pectin by saponification and titration" en *Methods in carbohydrate chemistry*. New York: Academic Press, 1965. ISBN: 0127462066.
23. MURILLO, B.*et al.* "Effect of bisulfite addition on the chemical composition and cellular content fractions of dehydrated coffee pulp". *J. Agric. Food Chem*. 1977, 25 (5), 1090-1092. ISSN: 0021-8561.
24. GURRAM, R. *et al.* "Technical possibilities of bioethanol production from coffee pulp: a renewable feedstock". *Clean Techn Environ Policy*. 2016, 18 (1), 269-278. ISSN: 1618-9558.

25. GUIDI, A. *et al.* “Obtención de pectina a partir de la cascara de maracuyá mediante hidrólisis ácida”. *Journal Boliviano de Ciencias*. 2010, 7 (21), 67-71. ISSN: 2075-8944.
26. OTALORA, A., F. BELALCAZAR. Pectin extraction from coffee pulp. WO/2014/083032A1, U.S. Patente No 9896572, 20 Feb. 2018.
27. TAYLOR, A. J. “Intramolecular distribution of carboxyl groups in low methoxylpectins—A review”. *Carbohydrate Polymers*. 1982, 2, 9-17. ISSN: 0144-8617.
28. WILLATS, W. G. T.*et al.* “Modulation of the degree and pattern of methyl-esterification of pectic homogalacturonan in plant cell walls”. *J. Biol. Chem.* 2001, 276, 19404-19413. ISSN: 1083-351X.
29. HARRIS, P. H.; SMITH, B. G. “Plant cell walls and cell-wall polysaccharides: structures, properties and uses in food products”. *International Journal of Food Science and Technology*. 2006, 41 (2), 129-143. ISSN: 0950-5423.
30. ICAITI (Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial). Industrialization of coffee pectin. Reporte Final de Progreso, Proyecto No. 936-5542-1-00-2041-00, ROCAP Office of the Science Advisor AID/Washington y Energy Officer Bureau of Science and Technology LAC/DR, AID/W, Guatemala, 1986.
31. YAMAGUCHI, F. *et al.* “Extraction and purification of pectic polysaccharides from soybean *okara* and enzymatic analysis of their structures”. *Carbohydrate Polymers*. 1996, 30, 265-273. ISSN: 0144-8617.