

**PRODUCCIÓN DE OLIGOSACÁRIDOS MEDIANTE AUTOHIDRÓLISIS DE
RESIDUOS PROVENIENTES DE LA CADENA AGROINDUSTRIAL DEL CAFÉ**

MANUEL JOSÉ LEAL GUTIÉRREZ

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2017

**PRODUCCIÓN DE OLIGOSACÁRIDOS MEDIANTE AUTOHIDRÓLISIS DE
RESIDUOS PROVENIENTES DE LA CADENA AGROINDUSTRIAL DEL CAFÉ**

MANUEL JOSÉ LEAL GUTIÉRREZ

Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero químico

Director

Ph.D. DEBORA ALCIDA NABARLATZ

Codirector

M.Sc. ROLANDO ACOSTA FERNANDEZ

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2017

AGRADECIMIENTOS

A mis padres por su apoyo incondicional, la motivación diaria y darme todo el amor que un hijo puede recibir.

A mi hermano por su alegría y forma de ver las cosas.

A mi nona Alicia por satisfacer mis caprichos en cada instante, por su preocupación constante y hacer cualquier cosa por verme feliz.

A mi familia en general por estar junto a mí en cada momento, y ser el motor que me impulsa a lograr metas como esta.

A la profesora Débora Nabarlatz y mi codirector Rolando Acosta por su guía y apoyo a lo largo de este proyecto.

A cada uno de los miembros del grupo de investigación INTERFASE, por su calidad humana y recibirme con los brazos abiertos desde el primer día.

A esas grandes personas que la vida puso junto a mí para hacer más amenos los momentos de dificultad, y ser los primeros con los que quise celebrar mis triunfos. Gracias por las palabras de ánimo en los momentos justos, por las largas conversaciones, cafés, y sueños compartidos. Gracias Kike Gómez, Laura Jaimes y Edgar Tapias por estar siempre ahí.

DEDICATORIA

Mis triunfos no son propios, soy una personificación del esfuerzo y dedicación de José Manuel Leal y Stella Gutiérrez, quienes a pesar de no haber podido recibir una educación superior, han luchado a lo largo de sus vidas para que esta no me falte a mí, este título profesional que recibo es por ellos y para ellos. También para mi hermano Víctor Leal, para que sueñe alto y persiga sus sueños, así como hice con el mío, que hoy veo culminado.

A mis nonas Alicia, Elisa y Teresa: ¡Ya tienen un nieto ingeniero!

A la memoria de mis abuelos Lucho, Víctor y Carlos quienes a través de recuerdos y anécdotas familiares han estado siempre en mi vida.

Esto es de todos ustedes.

Manuel J Leal Gutiérrez.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	14
1. ESTADO DEL ARTE.....	16
1.1 EFECTO PREBIÓTICO DE LOS OLIGOSACÁRIDOS.....	16
1.2 OBTENCIÓN DE OLIGOSACÁRIDOS.....	17
1.2.1. Métodos Químicos	20
1.2.2. Procesos enzimáticos	20
1.2.3. Autohidrólisis.....	21
2. OBJETIVO GENERAL.....	22
2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:.....	22
3. METODOLOGÍA	23
3.1. MATERIAS PRIMAS.....	23
3.2. PROCESO HIDROTÉRMICO. AUTOHIDRÓLISIS DE RESIDUOS	24
3.3. POSHIDRÓLISIS.....	25
3.4 MÉTODOS DE CUANTIFICACIÓN	26
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
4.1. INFLUENCIA DE LAS VARIABLES DEL PROCESO.....	28
4.2 CARACTERIZACIÓN DEL LICOR DE AUTOHIDRÓLISIS.....	31
4.3 RENDIMIENTO DE OLIGOSACÁRIDOS.....	35
4.4 DISTRIBUCIÓN DE AZÚCARES DURANTE EL PROCESO. BALANCE DE MASA.....	38
5. CONCLUSIONES	41

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....42

BIBLIOGRAFIA.....45

ANEXOS.....50

LISTADO DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Caracterización cáscara y borra de café.....	19
Tabla 2. Diseño de experimentos.	24
Tabla 3. Análisis de Varianza (ANOVA) para el porcentaje de masa disuelta	31
Tabla 4. Rendimiento de oligosacáridos reportados por literatura	37

TABLA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Estructuras existentes dentro de la hemicelulosa, a) Xiloglucano, b) Ramnogalacturonano.....	18
Figura 2. Esquema de la metodología desarrollada en el presente trabajo	23
Figura 3. Masa disuelta durante la autohidrólisis de la borra (a) y la cáscara (b) del café.	29
Figura 4. Composición del licor de autohidrólisis de la borra (a) y la cáscara (b) de café. Relación sólido:solvente 1:8 [g/g].....	32
Figura 5. Concentración de los diversos componentes en el licor de autohidrólisis de la borra (a) y la cáscara (b) de café. Relación sólido:solvente 1:8 [g/g].	34
Figura 6. Rendimiento de oligosacáridos a partir de la borra (a) y la cáscara (b) de café. Relación sólido:solvente [g/g] 1:10.....	35
Figura 7. Distribución de azúcares en la borra (a) y la cáscara (b) de café obtenidos a 190°C, 30 minutos.....	38

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Perfiles de temperatura en los reactores	50
Anexo B. Curvas de calibración HPLC	51
Anexo C. Análisis de varianza sobre el porcentaje de masa disuelta para cada biomasa.	57
Anexo D. Composición del licor de autohidrólisis	58
Anexo E. Composición del licor de autohidrólisis. Relación biomasa:solvente 1:10	60

RESUMEN

TITULO: PRODUCCIÓN DE OLIGOSACÁRIDOS MEDIANTE AUTOHIDRÓLISIS DE RESIDUOS PROVENIENTES DE LA CADENA AGROINDUSTRIAL DEL CAFÉ.*

AUTOR: MANUEL JOSÉ LEAL GUTIÉRREZ. **

PALABRAS CLAVE: AUTOHIDROLISIS, BIOMASA, CAFÉ, OLIGOSACÁRIDOS

DESCRIPCIÓN.

Dos de los principales residuos de la cadena agroindustrial del café, como la cáscara y la borra con contenidos de hemicelulosa de 22,00 y 32,85% respectivamente, fueron sometidos al proceso de autohidrólisis para evaluar la producción de oligosacáridos en función de la temperatura (170 y 190°C), tiempo (30 y 60 minutos) y relación biomasa/solvente (1:8 y 1:10 g/g). A partir de los datos experimentales y el análisis ANOVA se determinó que la temperatura y el tiempo de reacción son las variables significativas del proceso, influyendo de forma favorable en el rendimiento de los oligosacáridos obtenidos, pero afectando la pureza de estos en el licor de autohidrólisis por el aumento de sustancias indeseadas disueltas (extractivos acuosos y orgánicos); por su parte, la relación biomasa/solvente no presentó un efecto considerable. El máximo rendimiento de producción de oligosacáridos en las dos biomosas se dio a 190°C y 30 minutos. La cáscara de café es una fuente promisorio de xilo y arabinooligosacáridos reportando un rendimiento de 65,7% con una concentración de oligosacáridos en el licor de autohidrólisis de 20,00 [g/L], por su parte, la borra de café alcanza un rendimiento de 67%, siendo los mano y galactooligosacáridos su componente principal en una concentración de 28,43 [g/L].

* Trabajo de Grado

**Facultad de ingenierías fisicoquímicas. Escuela de ingeniería química. Directora: Ph.D Débora A. Nabarlatz. Codirector: M. Sc. Rolando A. Acosta Fernández.

ABSTRACT

TITLE: PRODUCTION OF OLIGOSACCHARIDES BY AUTOHYDROLYSIS OF RESIDUES FROM COFFEE PRODUCTION AND PROCESSING.*

AUTHOR: MANUEL JOSÉ LEAL GUTIÉRREZ**

KEYWORDS: AUTOHYDROLYSIS, BIOMASS, COFFEE, OLIGOSACCHARIDES

DESCRIPTION

Two of the main residues from coffee production and processing, such as the coffee husk and spent coffee ground with hemicellulose contents of 22.00 and 32.85% respectively, were submitted to the autohydrolysis process to evaluate the production of oligosaccharides as a function of temperature (170 and 190 ° C), time (30 and 60 minutes) and biomass / solvent ratio (1: 8 and 1:10 g / g). From the experimental data and the ANOVA analysis it was determined that the temperature and reaction time are the significant process variables, favorably influencing the yield of the oligosaccharides obtained, but affecting the purity of these in the autohydrolysis liquor by the increase of dissolved unwanted substances (aqueous and organic extractives); On the other hand, the ratio biomass / solvent does not produce a considerable effect. The maximum production yield of oligosaccharides in the two biomass was given at 190 ° C and 30 minutes. The coffee husk is a promising source of xylo and arabino-oligosaccharides reporting a yield of 65.7% with a concentration of oligosaccharides in the autohydrolysis liquor of 20.00 [g/L], whereas the spent coffee ground reach a yield of 67%, the manno and galacto-oligosaccharides being the main component in a concentration of 28.43 [g/L].

* Bachelor Thesis

**Facultad de ingenierías fisicoquímicas. Escuela de ingeniería química. Directora: Ph.D Débora A. Nabarlatz. Codirector: M. Sc. Rolando A. Acosta Fernández.

INTRODUCCIÓN

El café ha sido históricamente el producto agrícola más representativo del país, el cual apalancó el desarrollo nacional a lo largo del siglo XX. Actualmente el país produce cerca de 850.000 toneladas anuales del producto las cuales representan el sustento de más de 563.000 familias [1]. Del material vegetal generado en la cadena agroindustrial del café tan sólo es aprovechado el 5% en la elaboración de la bebida [2], mientras que el 95% restante corresponde a residuos vegetales que comúnmente son aglomerados durante el periodo de cosecha y posteriormente dispersados por el campo para que actúen como abono natural; sin embargo, debido a la gran cantidad de residuos generados, muchos de éstos pueden convertirse en una fuente de contaminación de los recursos naturales, por lo cual su apropiada disposición es un tema de interés.

La materia orgánica generada en el proceso de producción, es el resultado de las múltiples etapas que sigue el fruto hasta convertirse en la bebida. Luego de su recolección, el fruto es llevado a la etapa de despulpado, donde se obtiene como subproducto la cáscara o pulpa, la cual constituye el 43,6% del fruto fresco [3]; posteriormente en la etapa de fermentación se desprende el mucílago, y seguidamente se efectúa la etapa de trilla, que tiene como objetivo separar las semillas del café de la capa amarilla que las recubre, denominada pergamino. Para llegar a la elaboración de la bebida, las semillas pasan por un proceso de tostado, molienda y extracción con agua caliente, con lo cual se obtiene el último subproducto, conocido como borra, que consiste en el café gastado y el cual representa cerca del 10% del fruto fresco inicial [3].

La conciencia ambiental hace necesario buscar alternativas a la disposición de este material lignocelulósico, que permita en primer lugar mitigar la contaminación y además generar un valor agregado al proceso de producción del café. El

aprovechamiento de la biomasa vegetal, en particular los materiales lignocelulósicos, permiten la generación sostenible de diversas aplicaciones a nivel industrial tales como combustibles, productos químicos, materiales poliméricos, entre otros. Uno de los compuestos que es posible obtener de estos residuos son los oligosacáridos, los cuales son polímeros de azúcares formados por la unión de monosacáridos mediante enlaces glucosídicos [4]. A los oligosacáridos como los fructooligosacáridos, xilooligosacáridos, galactooligosacáridos y los mananooligosacáridos se les han atribuido tener un efecto prebiótico [5]. Estos prebióticos, al estimular el crecimiento de bacterias benéficas en la flora intestinal, permiten la disminución de las enfermedades gastrointestinales [6], por lo que su obtención y uso es de gran interés en la industria alimentaria y farmacéutica. Además, con la presente tendencia de la producción agrícola, la renovabilidad y el reciclado de materiales lignocelulósicos, los desechos vegetales hacen atractivo su uso como materia prima para la producción de compuestos prebióticos.

En este sentido, el presente trabajo analiza la influencia de la temperatura, el tiempo de reacción y la relación biomasa/solvente en la obtención de oligosacáridos mediante autohidrólisis de la cáscara y borra del café, con lo que se pretende dar valor agregado a más del 50% de los residuos provenientes de la cadena agroindustrial del café.

1. ESTADO DEL ARTE

Los oligosacáridos son moléculas formadas por la unión de monosacáridos mediante enlaces glucosídicos, los cuales pueden formar una cadena lineal o ramificada. Se encuentran en diferentes concentraciones en la leche, la miel, el jugo de la caña de azúcar, el café, así como frutas y verduras [7].

Los oligosacáridos presentan una dulzura relativamente baja con respecto a sustancias disacáridas como la sacarosa, lo que los hace útiles en la producción de alimentos cuando es deseable un agente de volumen con dulzor reducido para mejorar otros sabores alimenticios [4]. A su vez, proporcionan una alta capacidad de retención de humedad, evitando el exceso de secado, y haciéndolos útiles como humectantes y en el control de la contaminación microbiana. También pueden usarse para controlar la cantidad de dorado debido a las reacciones de Maillard en alimentos procesados térmicamente. Tales aditivos de dulzor moderado, características organolépticas y estabilidad en una amplia gama de pH y temperatura son adecuados para su incorporación en los alimentos como edulcorante, agente de control de peso y humectante en confiterías y panaderías [4].

1.1 EFECTO PREBIÓTICO DE LOS OLIGOSACÁRIDOS.

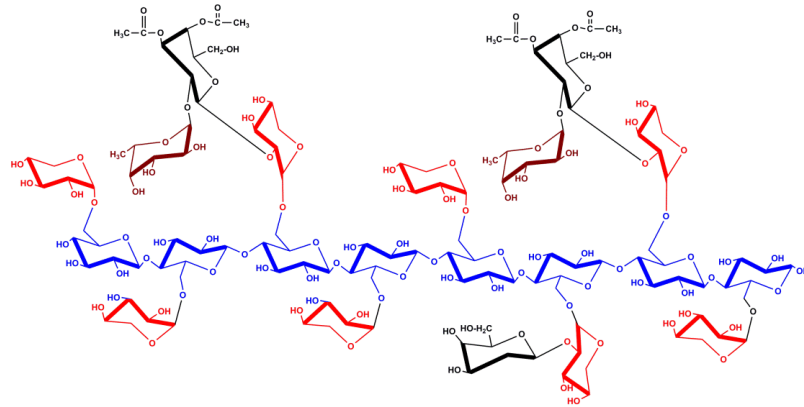
Entre los oligosacáridos se pueden distinguir dos grupos importantes, los oligosacáridos digeribles y los no digeribles, en estos últimos, los átomos de carbono anoméricos (C1 o C2) del monosacárido inicial tienen una configuración que hace que sus enlaces glucosídicos no sean susceptibles a la actividad hidrolítica de las enzimas digestivas humanas [4], dándoles importantes propiedades fisicoquímicas y fisiológicas que permiten emplearlos como fibras dietéticas y prebióticos.

Los oligosacáridos no digeribles, como los fructooligosacáridos (FOS), xilooligosacáridos (XOS), manooligosacáridos (MOS), y galactooligosacáridos (GOS) mejoran la flora intestinal debido a que se hidrolizan a pequeños oligómeros y monómeros, los cuales son metabolizados por microorganismos capaces de afectar de manera beneficiosa la salud del huésped, como lo son las bifidobacterias y lactobacilos [8], proporcionándoles a éstos la energía necesaria para su crecimiento y proliferación, así como la producción de ácidos grasos de cadena corta, lo que conlleva a la disminución del pH del medio, inhibiendo el crecimiento de bacterias patógenas como Enterobacteria, Clostridium y Salmonella [9].

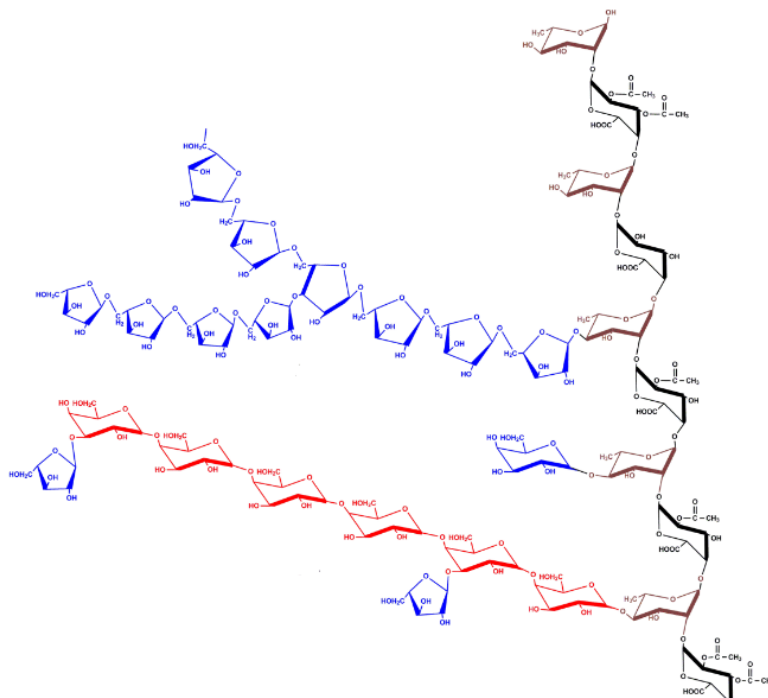
1.2 OBTENCIÓN DE OLIGOSACÁRIDOS.

La biomasa vegetal es fuente del material lignocelulósico, el cual está constituido por celulosa, hemicelulosa, y lignina. De estos tres componentes, la hemicelulosa es un polímero heterogéneo compuesto de pentosas (D-xilosa y L-arabinosa) y hexosas (D-glucosa, D-manosa y D-galactosa) que forman cadenas ramificadas, estando unidas entre sí por enlaces β -1,4 y ocasionalmente por enlaces β -1,3 [10]. Las pentosas y hexosas pueden constituir una misma estructura dentro de la hemicelulosa, tal como se muestra en la Figura 1; en el caso del xiloglucano (Figura 1b), la cadena principal está constituida por glucano (unión de glucosa) con ramificaciones de xilosa (rojo), galactosa (negro) y fucosa (café) [11]. Otro ejemplo es el Rhamnogalacturonano (Figura 1c) que tiene oligosacáridos ramificados de arabinosa (azul) y galactosa (rojo) [11]. Por lo que la degradación del material lignocelulósico puede permitir la obtención de oligosacáridos con diferentes estructuras dependiendo de la fuente vegetal de la que proviene.

Figura 1. Estructuras existentes dentro de la hemicelulosa, a) Xiloglucano, b) Ramnogalacturonano.



a)



b)

Fuente: [11]

En el caso de los residuos provenientes de la cadena agroindustrial del café, la Tabla 1 presenta las caracterizaciones de la cáscara y la borra del café reportados

por Ferraz y Silva [12] y Ballesteros et al [13] respectivamente, así como la caracterización desarrollada previamente en el grupo de investigación INTERFASE [14].

Tabla 1. Caracterización cáscara y borra de café.

Componente	Cáscara de café		Borra de café	
	Ferraz y Silva [13]	Sanabria [15]	Ballesteros [14]	Sanabria [15]
Celulosa	23,10%	12,10%	12,40%	10,19%
Hemicelulosa	23,80%	22,00%	39,10%	32,85% 2,63%
Arabinosa	5,20%	7,82%	3,60%	28,18%
Manosa/Galactosa	0%	0%	35,50%	0%
Xilosa	13,60%	10,71%	0%	2,04%
Ácido acético	No reporta	3,47%	No reporta	14,95%
Lignina	28,30%	18,89%	23,90%	25,26%
Acuosos	No reporta	26,27%	No reporta	7,77%
Orgánicos	No reporta	3,16%	No reporta	1,27%
Cenizas	No reporta	12,37%	No reporta	

[%p/p. Base seca]. Fuente: [12][13][14]. Modificado por el autor

La borra de café es rica en azúcares polimerizados en la hemicelulosa y celulosa, siendo la manosa y la galactosa los principales constituyentes del total de los azúcares [13], lo que convierte a este subproducto en una potencial fuente de mano y galactooligosacáridos. Por otra parte, la cáscara de café presenta un contenido de hemicelulosa entre el 22 y el 23,8%, donde se identifica la presencia de arabinosa, ácido acético, y principalmente arabinosa y xilosa [12], siendo así un recurso atractivo en la búsqueda de arabino y xilooligosacáridos. A su vez, la caracterización hecha por el grupo de investigación INTERFASE [14] tomada como base para el análisis en la presente investigación, presenta concordancia en los valores de los azúcares que conforman la hemicelulosa en la cáscara de café reportados por Ferraz y Silva [12] con diferencias que no superan el 3%, en el caso de la celulosa y lignina esta discrepancia se eleva al 10%. La ausencia de xilosa en la borra de café reportada por Ballesteros et al [13] se confirma en la presente caracterización, comprobando la presencia mayoritaria de manosa y galactosa en esta biomasa; es de resaltar que los valores de celulosa y arabinosa

concuerdan con los reportados por *Ballesteros* teniendo una diferencia de tan sólo el 2% entre ellos.

Para la obtención de estos oligosacáridos se utilizan métodos químicos como la extracción alcalina y los tratamientos ácidos, métodos biológicos como los procesos enzimáticos, así como la degradación mediante tratamientos térmicos.

1.2.1. Métodos Químicos. En las condiciones adecuadas el empleo de ácidos y bases en la obtención de oligosacáridos logra rendimientos superiores a los conseguidos en procesos como la autohidrólisis [15]. Sin embargo, este tipo de sustancias tienen factores negativos, ya que a altas temperaturas pueden conducir a la corrosión de los equipos, la presencia en gran proporción de carbohidratos en sus formas libres (monosacáridos) y la formación de subproductos tóxicos como el furfural, e hidroximetilfurfural (HMF) limitando el uso del producto obtenido [5].

1.2.2. Procesos enzimáticos. La hidrólisis enzimática es a menudo preferida sobre la hidrólisis básica y ácida debido a su alta especificidad y condiciones de reacción suaves. La alta especificidad conduce a que la degradación de la hemicelulosa presente un producto con un nivel de pureza superior, dada la poca formación de productos tóxicos e indeseados (furfural, hidroximetilfurfural). A su vez esta característica hace necesario el uso de varios tipos de enzimas en el proceso, ya que, al diferir en sus propiedades fisicoquímicas, y modos de acción, algunas enzimas actuarán sobre la cadena principal del polímero, mientras otras romperán las cadenas laterales o secundarias. La efectividad de este tipo de procesos se ve influenciada por la accesibilidad de la enzima al sustrato, por lo que generalmente el proceso enzimático viene precedido de un pretratamiento del material lignocelulósico [16]. Esta técnica de obtención de oligosacáridos a pesar de dar resultados satisfactorios en términos de rendimientos, aún no posee una amplia aplicación debido a los altos costos y puede no ser económicamente viable a escala comercial de producción.

1.2.3. Autohidrólisis. La autohidrólisis consiste en la degradación del material lignocelulósico mediante la acción del agua como solvente a altas temperaturas. Este proceso logra la despolimerización hidrolítica de la hemicelulosa a oligosacáridos de alto peso molecular, y luego, en reacciones subsiguientes éstos siguen su proceso de degradación hasta convertirse en oligosacáridos de cadena corta, monosacáridos y productos indeseados como furfural [17], dejando la celulosa y la lignina como polímeros esencialmente no degradados [15, 17]. La utilización de agua y biomasa como únicos reactivos del proceso traen consigo un aspecto favorable a nivel operacional, como lo son la disminución del impacto ambiental, la ausencia de corrosión en los equipos y una baja producción de compuestos indeseados, los cuales tienen una incidencia considerable en la hidrólisis ácida y alcalina [15].

En el proceso de autohidrólisis las concentraciones de los compuestos resultantes dependen de las condiciones operativas empleadas: algunos autores han usado tiempos de reacción desde los 10 minutos [18] hasta más de 5 horas [19], con intervalos de temperaturas que oscilan entre los 145 y 200°C [17, 18, 20], y relaciones biomasa/solvente de 1:5 a 1:15 [21]. Los aumentos de temperatura traen consigo un incremento en la velocidad de hidrólisis [19], influyendo de forma directa en el producto obtenido. El tiempo de reacción incide significativamente, ya que tiempos prolongados conducirán a una hidrólisis excesiva del material lignocelulósico, representando una disminución en el rendimiento; adicionalmente, tiempos cortos de reacción no permitirán una correcta extracción de la hemicelulosa haciendo ineficiente el proceso. En el caso de la relación biomasa/agua se ha encontrado cierta incidencia en el rendimiento de extracción [22]. Por lo que un correcto análisis de la influencia de estos parámetros proporcionará condiciones de operación eficientes en términos energéticos y de rendimiento.

2. OBJETIVO GENERAL.

Evaluar la producción de oligosacáridos mediante autohidrólisis de residuos lignocelulósicos provenientes de la cadena agroindustrial del café.

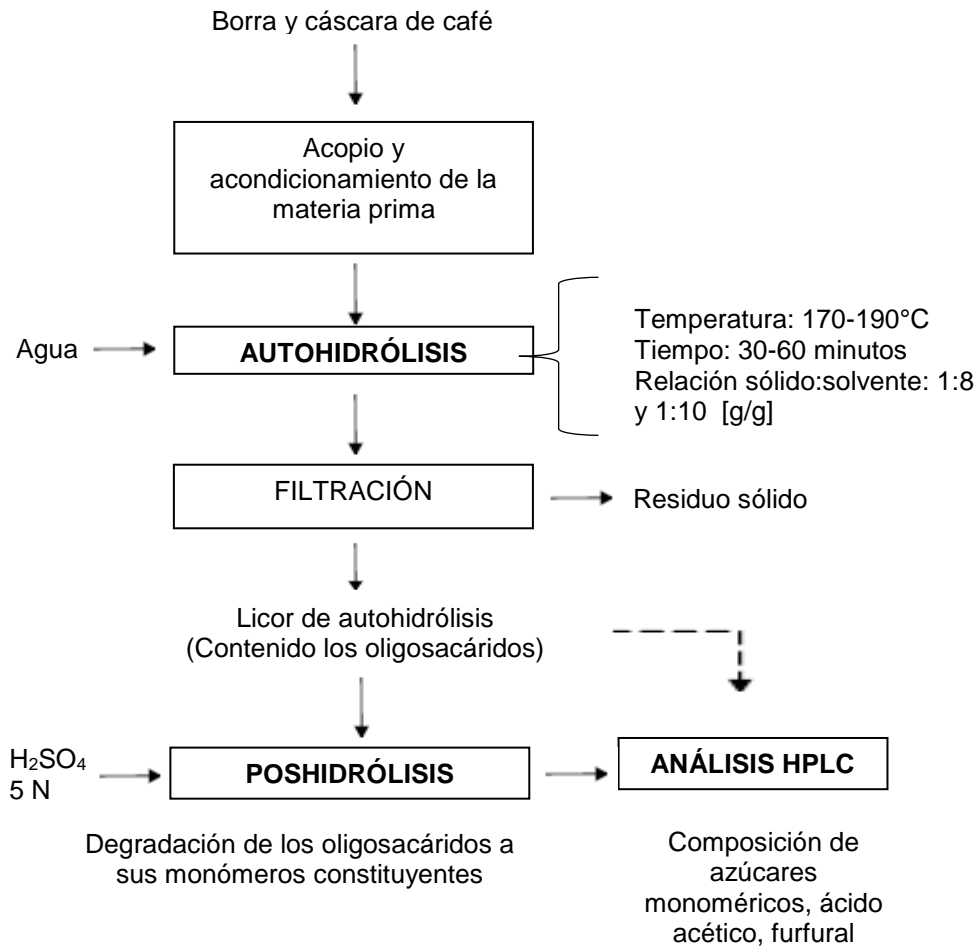
2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Identificar y cuantificar los oligosacáridos producidos mediante la autohidrólisis de la cáscara y la borra del café a escala laboratorio.
- Evaluar el rendimiento y las características de los oligosacáridos obtenidos en función de la temperatura, el tiempo de reacción y la relación biomasa/solvente.

3. METODOLOGÍA

La metodología establecida para el desarrollo de la investigación se describe de manera general en el siguiente esquema:

Figura 2. Esquema de la metodología desarrollada en el presente trabajo



3.1 MATERIAS PRIMAS

Para el presente estudio se seleccionaron residuos lignocelulósicos de la cadena agroindustrial del café, tales como la cáscara y la borra (café gastado); teniendo

en cuenta que estos residuos representan más del 50% en peso de los residuos originados en el sector [3] y su composición permite inferir una variedad en los oligosacáridos a obtener (Ver tabla 1).

La cáscara de café utilizada fue recolectada de la Finca Gibraltar, ubicada a 15 min de la zona urbana del municipio de San Gil, Santander. Por otra parte, la borra es el subproducto generado de la preparación de la bebida usando café de marca Sello Rojo. Antes de su utilización ambas biomásas fueron llevadas a un horno a 105°C durante 24 horas, molidas y separadas hasta un tamaño de partícula inferior a 3 mm.

3.2. PROCESO HIDROTÉRMICO. AUTOHIDRÓLISIS DE RESIDUOS

La autohidrólisis de los residuos seleccionados se realizó usando reactores de acero inoxidable con capacidad de 50 mL, los cuales fueron sumergidos en un baño de aceite térmico marca Memmert One 10 precalentado previamente a la temperatura de reacción. Para todos los experimentos se utilizaron 30 mL de agua desionizada obtenidos de un equipo Milli-Q (Millipore Inc., EE.UU.) y la biomasa fue pesada teniendo en cuenta la relación biomasa/solvente [g/g] establecida para cada experimento.

Tabla 2. Diseño de experimentos.

Experimento	Temperatura [°C]	Tiempo [min]	Relación	Nomenclatura*
1	(-)	(-)	(-)	B.170.30.8
2	(-)	(+)	(-)	B.170.60.8
3	(+)	(-)	(-)	B.190.30.8
4	(+)	(+)	(-)	B.190.60.8
5	(-)	(-)	(+)	B.170.30.10
6	(-)	(+)	(+)	B.170.60.10
7	(+)	(-)	(+)	B.190.30.10
8	(+)	(+)	(+)	B.190.60.10

Nota: La inicial de la nomenclatura cambia de acuerdo a la biomasa B (Borra) y C (cáscara).

Las variables de operación estudiadas fueron la temperatura, el tiempo de reacción y la relación biomasa/solvente siguiendo un diseño de experimentos factorial con dos niveles tal como se presenta en la Tabla 2, donde los niveles alto (+) y bajo (-) para la temperatura fueron 170-190°C, tiempos de reacción de 30-60 minutos y relación biomasa/solvente en peso de 1:8-1:10, respectivamente. Cada experimento fue realizado por duplicado.

El proceso de autohidrólisis fue supervisado evaluando la temperatura interna del reactor, para tal fin se acopló una termocupla tipo K a uno de los reactores permitiendo establecer los perfiles de temperatura a lo largo de las reacciones, los cuales se presentan en el Anexo A. Luego de finalizado el tiempo de reacción, los reactores fueron sacados del baño de aceite e inmediatamente sumergidos en agua fría para detener la reacción y llevarlos a temperatura ambiente. Los reactores fueron descargados y los productos de reacción fueron filtrados al vacío para separar el líquido hidrolizado del sólido. El sólido fue lavado con abundante agua y trasladado a un horno a 105°C durante 24 horas, posteriormente fue pesado para poder determinar la cantidad de masa disuelta en el proceso de autohidrólisis. El líquido obtenido del proceso fue filtrado usando un filtro de jeringa de 0,22 µm y almacenado en viales de 2 mL para ser analizado posteriormente por HPLC, con el fin de determinar los carbohidratos presentes.

3.3 POSHIDRÓLISIS

Del líquido hidrolizado de la etapa previa se tomaron 5 mL, los cuales fueron mezclados con un 1 mL de H₂SO₄ a 5 N. Esta solución se hidrolizó a 120°C en una autoclave durante 45 minutos para romper todos los enlaces existentes y así convertir todos los oligosacáridos en sus respectivos monómeros [23]. La solución se filtró a través de un filtro de jeringa 0,22 µm y se almacenó en viales de 2 mL, donde los monosacáridos fueron cuantificados mediante HPLC.

3.4 MÉTODOS DE CUANTIFICACIÓN

La cuantificación de los azúcares se llevó a cabo mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), para ello se utilizó un cromatógrafo marca Shimadzu, facilitado por el Centro de Investigación para el Desarrollo Sostenible en industria y energía (CIDES), equipado con un detector de índice de refracción RID-10^a utilizando una columna Bio-Rad HPX 87H a 65°C con fase móvil de H₂SO₄ 0,005 M utilizando un flujo de 0,6 ml/min. Previamente se establecieron curvas de calibración para los azúcares monoméricos galactosa, manosa, xilosa, fructosa, ramnosa, arabinosa (estándares de Alfa Aesar[®] con pureza superior al 98%), glucosa (Panreac Applichem[®]) y compuestos como ácido acético y furfural, las cuales son presentadas en el Anexo B.

El porcentaje de masa disuelta (*MD*) se calculó de acuerdo a la ecuación 1 donde *MI* corresponde a la masa inicial de biomasa [g] y *MF* a la masa seca del sólido resultante del proceso de autohidrólisis [g].

$$MD = \frac{MI - MF}{MI} \cdot 100 \quad (1)$$

La cantidad de oligosacáridos fue determinada a partir de la ecuación 2 donde *O_i* es la cantidad de oligosacáridos del componente *i* [g], *MON_{ph_i}* y *MON_{h_i}* la cantidad de monosacáridos del componente *i* [g] luego de la poshidrólisis y autohidrólisis respectivamente, obtenidos por el análisis de HPLC.

$$O_i = MON_{ph_i} - MON_{h_i} \quad (2)$$

El rendimiento de extracción de los oligosacáridos (*R_{OSi}*), expresado matemáticamente en la ecuación 3 como [%p/p], se determinó como la cantidad de oligosacáridos (*O_i*) extraídos de la hemicelulosa presente en la biomasa inicial (*H_b*) donde este último valor corresponde a la caracterización de la biomasa.

$$R_{OSi} = \frac{O_i / MI}{H_b / MI} \cdot 100 \quad (3)$$

La concentración de los oligosacáridos está determinada como la cantidad de éstos [g] en un litro de licor de autohidrólisis obtenido.

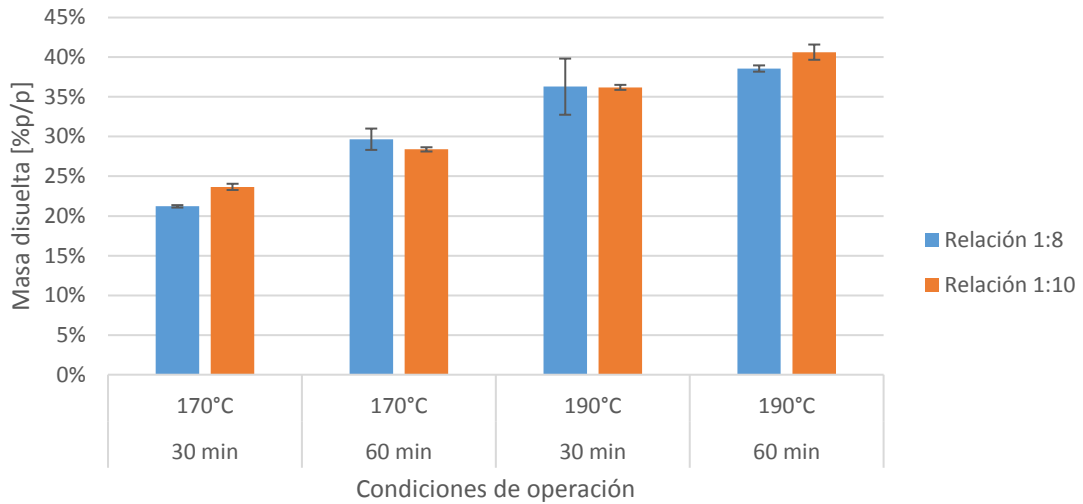
La influencia de las variables de operación se analizó mediante un análisis de varianza con el software estadístico *InfoStat* con nivel de significancia de 0,05, para obtener factores de confiabilidad del 95% de acuerdo con el análisis estadístico.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

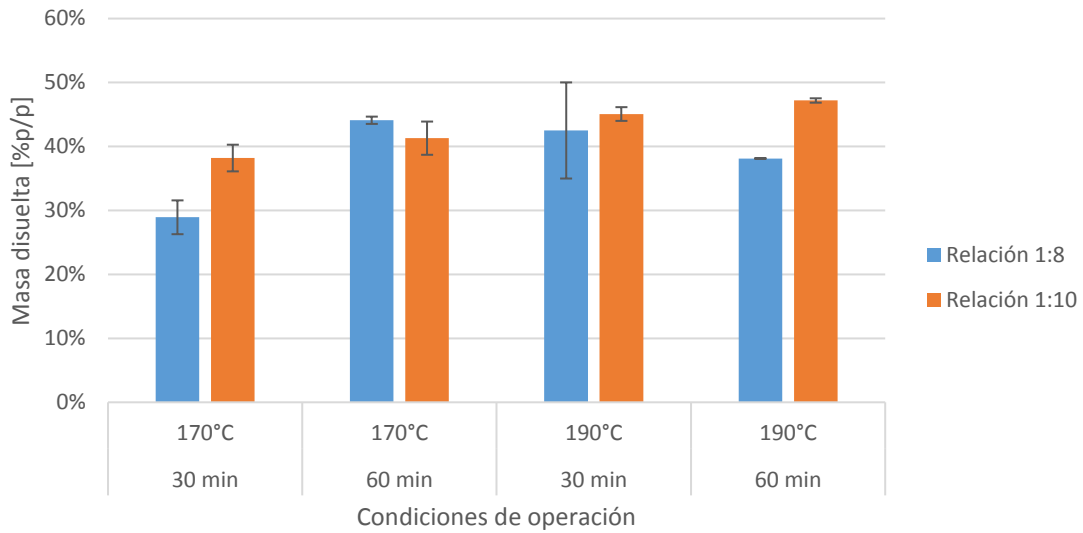
4.1. INFLUENCIA DE LAS VARIABLES DEL PROCESO.

La influencia de la temperatura, el tiempo de reacción y la relación biomasa/solvente en el rendimiento y las características de los oligosacáridos obtenidos se determinó a partir del porcentaje de masa disuelta en cada uno de los experimentos. Las Figuras 3 a y b muestran los porcentajes de masa disuelta para la borra y cáscara de café respectivamente, donde se observa que los aumentos en la temperatura y tiempo de reacción ocasionan un incremento en la masa disuelta. Diversos estudios utilizando autohidrólisis en los cuales se ha empleado un factor de severidad (el cual da una medida cuantitativa de la intensidad de las variables), han indicado que el aumento de estas variables incrementa la solubilización de la biomasa [24, 25]. Esto se debe tanto a una mayor despolimerización de la celulosa [15] como de la hemicelulosa [19] como resultado de una hidrólisis fuerte que lleva a la degradación de una mayor cantidad de componentes. En el caso de la relación biomasa/solvente en la mayoría de los casos las variaciones de la masa disuelta se encuentran dentro del rango de la desviación de los datos, lo que podría dar a entender que esta variable no tiene un efecto significativo.

Figura 3. Masa disuelta durante la autohidrólisis de la borra (a) y la cáscara (b) del café.



(a)



(b)

Dado que los oligosacáridos se encuentran en la fracción de hemicelulosa y las condiciones de reacción buscan la degradación de esta parte de la biomasa sin afectar significativamente a la celulosa y la lignina [17], el porcentaje de masa disuelta debería ser similar a la cantidad de hemicelulosa presente en la biomasa

(ver Tabla 1). En el caso de la borra del café los porcentajes de masa disuelta, oscilan entre un 21,2 y 40,6% tal como se muestran en la Figura 3a, que al ser comparados con el 32,85% de hemicelulosa reportada en la caracterización para esta biomasa, indican que en la mayoría de los experimentos es posible extraer un porcentaje superior a la totalidad de la hemicelulosa existente, coincidiendo con los resultados de la autohidrólisis de la cáscara de café (Figura 3b), la cual presenta un contenido de hemicelulosa (22%) considerablemente inferior a la cantidad de masa disuelta.

Durante la autohidrólisis de la borra de café llevada a cabo por *Ballesteros et al* [21] para la obtención de polisacáridos antioxidantes a 180°C, relación 1:10 y 30 minutos de reacción se logró una extracción superior al 50%, que fue atribuida a la extracción de una pequeña parte de celulosa cristalina al aumentar la temperatura y el tiempo de extracción. Además, estudios de autohidrólisis con diferentes biomásas como el desarrollado por *Soledad et al* [15] con la poda del árbol de olivo presentan una disolución de la celulosa entre el 30 y 40% a condiciones similares a las empleadas en el presente estudio. A su vez, *Nabarlatz et al* [23] durante la autohidrólisis de mazorca de maíz y cáscara de almendra a 179°C y 23 minutos, también informan una ligera degradación de la celulosa y la lignina; por lo que la posible degradación de estos componentes en las biomásas objeto de estudio sean los que ocasionan estos porcentajes de masa disuelta. Estos resultados están acordes a los obtenidos durante el proceso de autohidrólisis sobre diferentes biomásas reportado por *Parajó et al* [17] en el que obtuvieron un rango de sólidos disueltos entre el 24 y 37% en la autohidrólisis de madera de eucalipto y mazorca de maíz, así como una disolución entre el 40 y 50% durante la autohidrólisis de cáscara de arroz y de cebada. Sin embargo, es de resaltar que las biomásas utilizadas no fueron pretratadas para remover el contenido de extractivos acuosos y orgánicos (que alcanzan cerca del 30% en peso), los cuales durante el proceso de autohidrólisis posiblemente fueron disueltos y por

consiguiente, pueden representar cambios considerables en el total de la masa disuelta.

Con el fin de analizar las variables de mayor influencia en el proceso de extracción de azúcares, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con la totalidad de los datos obtenidos respecto al porcentaje de masa disuelta. Tal como se presenta en la Tabla 3, la temperatura y el tiempo de reacción presentan un *p-valor* inferior a 0,05, por lo que son las variables más significativas en el proceso. Adicionalmente, se confirma estadísticamente que la relación biomasa/solvente no presenta una incidencia importante, lo que respalda la decisión de gran parte de la literatura de desarrollar su experimentación con una sola relación biomasa/solvente [15, 17, 23]. En el Anexo C se presenta el análisis ANOVA detallado para cada biomasa.

Tabla 3. Análisis de Varianza (ANOVA) para el porcentaje de masa disuelta

Variable	SC	GL	CM	F	p-valor
Temperatura	0,0600	1	0,0600	15,97	0,0005
Tiempo	0,0200	1	0,002	4,31	0,0488
Relación	0,0100	1	0,0100	1,51	0,2314
Temperatura x tiempo	0,0100	1	0,0100	2,43	0,1318
Temperatura x Relación	0,0004	1	0,0004	0,12	0,7332
Tiempo x Relación	0,0006	1	0,0006	0,17	0,6830
Interacción triple	0,0100	1	0,0100	1,99	0,1707
Error	0,0900	24	0,0040		
Total	0,19	31			

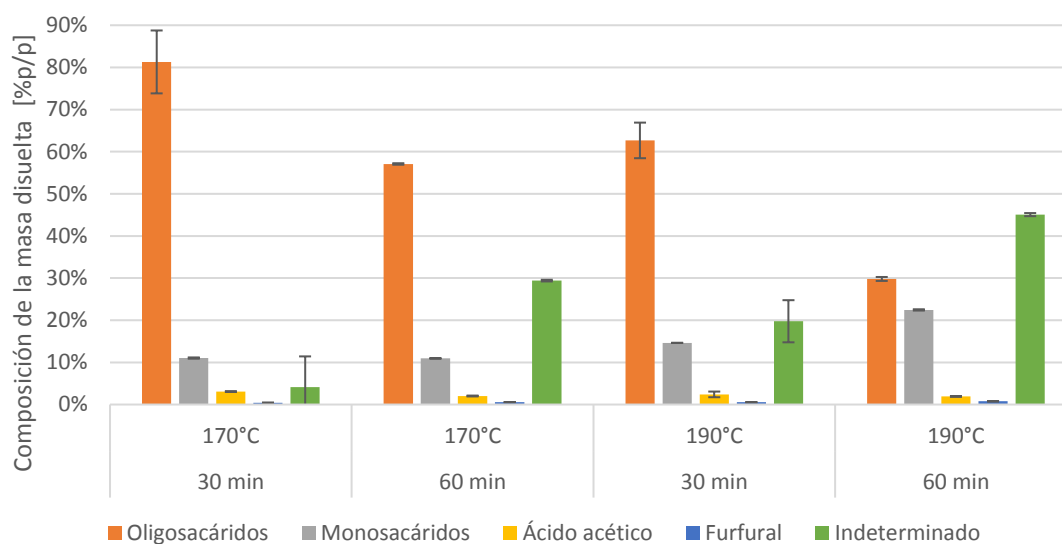
4.2 CARACTERIZACIÓN DEL LICOR DE AUTOHIDRÓLISIS

Los productos de autohidrólisis cuantificables son los glucooligosacáridos (GLOS), arabinooligosacáridos (AOS), manooligosacáridos (MOS), galactooligosacáridos (GOS), xilooligosacáridos (XOS), los respectivos monómeros procedentes de la degradación hidrolítica de estos oligosacáridos, el ácido acético producido a partir de los grupos acetilo y el furfural formado por la deshidratación de pentosas; los demás compuestos están agrupados en el grupo de indeterminados y han sido calculados por diferencia. En el Anexo D se presenta la composición de la masa

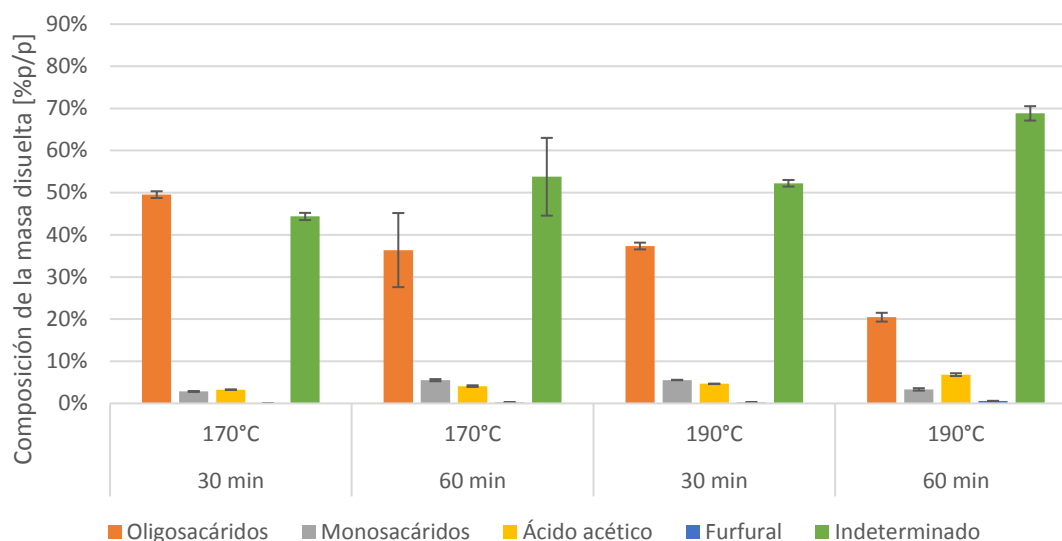
disuelta (%p/p) y la concentración de los compuestos (g/L) en el licor de autohidrólisis de cada experimento.

El aumento de la temperatura y tiempo de reacción, que ocasiona un incremento en el porcentaje de masa disuelta, trae consigo un efecto desfavorable en la composición de los oligosacáridos en el licor de autohidrólisis, tal como se observa en las Figuras 4 a y b para la relación biomasa/solvente de 1:8. Tal como se mencionó anteriormente, además de la degradación de la hemicelulosa, es posible que se presente la disolución de extractivos orgánicos y acuosos, así como una leve degradación de parte de la celulosa y la lignina, lo que se ve reflejado en el aumentando de los compuestos indeterminados a medida que se incrementan las condiciones de operación. Los resultados obtenidos para la relación 1:10 siguen la misma tendencia y se presentan en el Anexo E.

Figura 4. Composición del licor de autohidrólisis de la borra (a) y la cáscara (b) de café. Relación solido:solvente 1:8 [g/g]



(a)



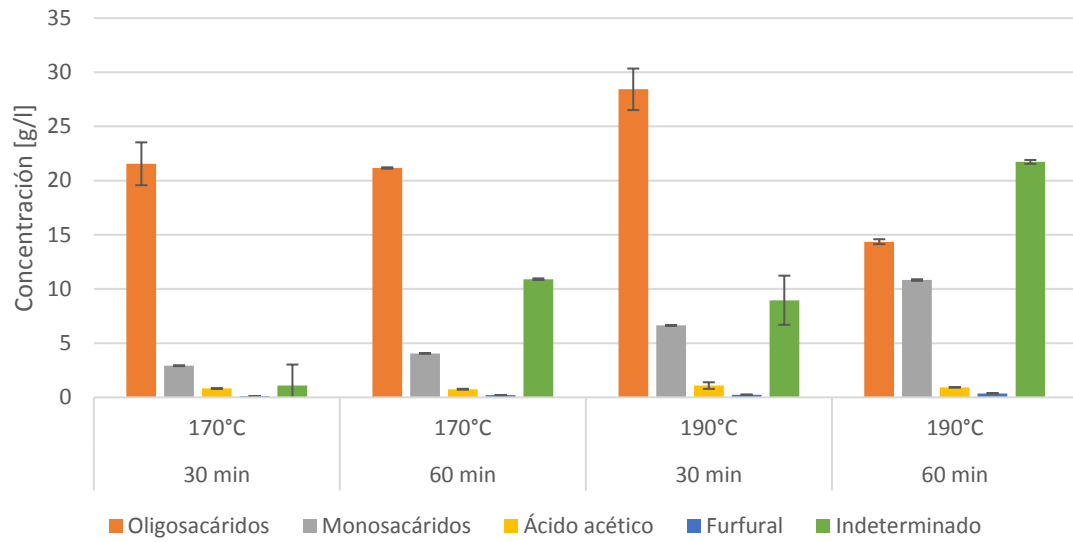
(b)

Las figuras 5 a y b presentan la concentración en g/L de los diferentes compuestos en el licor de autohidrólisis, donde se observa que la máxima concentración de oligosacáridos se consigue a 190°C y 30 minutos. Sin embargo, dado que a estas condiciones de operación aumenta la concentración de productos indeseados, se requerirá la inclusión de tratamientos de purificación adicionales para aislar los oligosacáridos obtenidos.

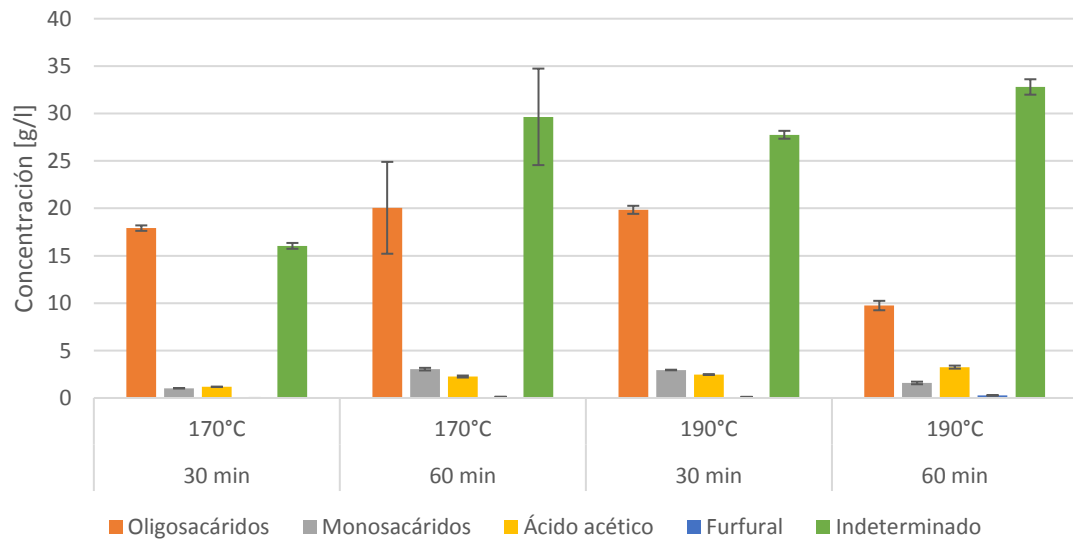
Otro factor importante es la degradación excesiva de los polímeros que conforman la hemicelulosa, ya que luego de ser degradados a oligosacáridos si se mantienen las condiciones de operación, estos continúan su proceso de degradación hasta sus monómeros constituyentes [17]. El comportamiento de los monómeros en el líquido obtenido de la borra de café (Figura 5a), coincide con lo expuesto por *Nabarlitz et al* [19] y *Carvalho et al* [20] los cuales en la autohidrólisis de mazorca de maíz y granos gastados de cebada, respectivamente, describen el aumento de la concentración de monosacáridos con la severidad de las condiciones de operación. Por su parte, la formación de productos indeseados como el furfural es baja, ya que a lo largo de toda la experimentación no llega a

superar la concentración del 1% concordando con los resultados de la autohidrólisis obtenidos por *Garrote et al* [25] y *Otieno et al* [26].

Figura 5. Concentración de los diversos componentes en el licor de autohidrólisis de la borra (a) y la cáscara (b) de café. Relación sólido:solvente 1:8 [g/g].



(a)

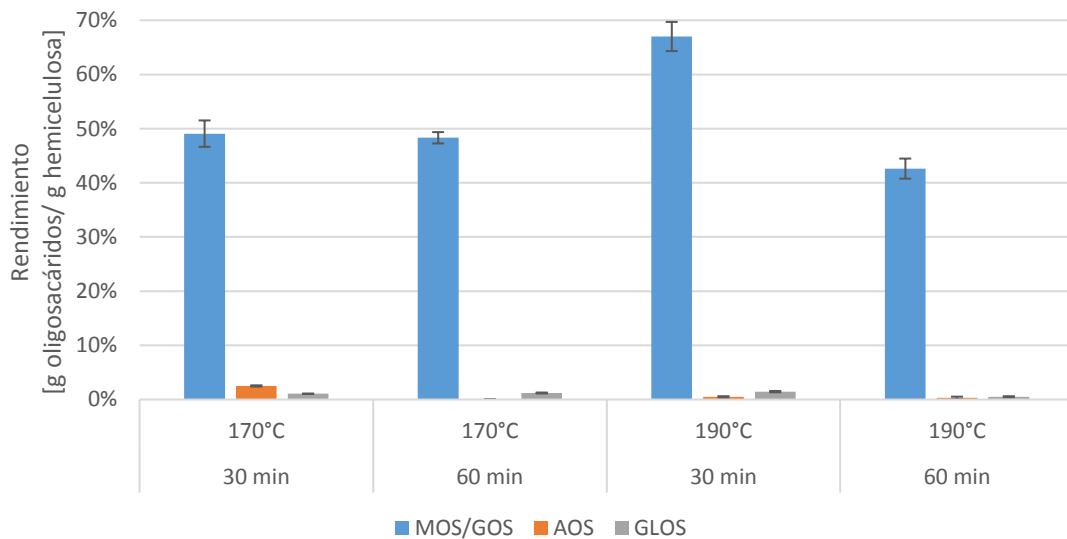


(b)

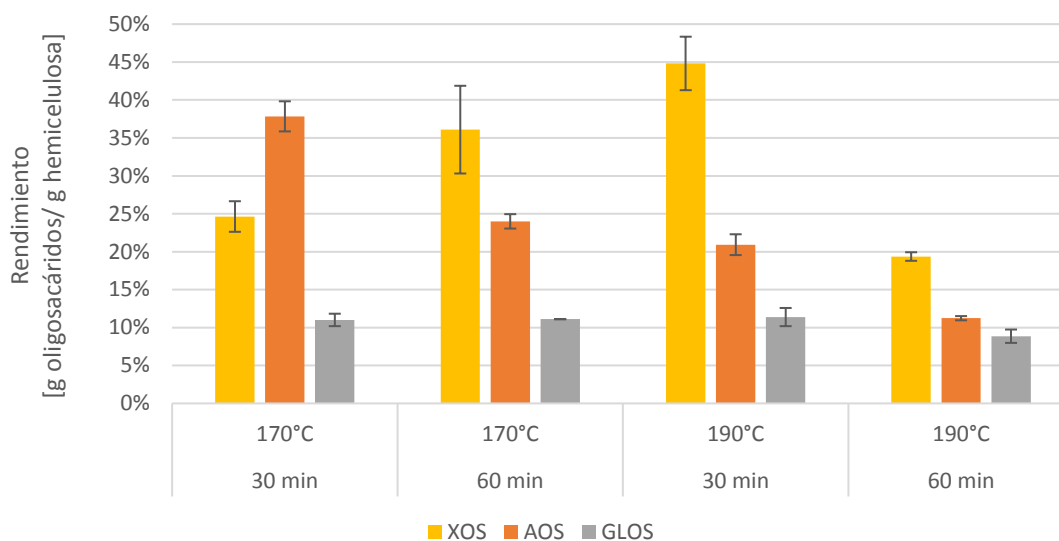
4.3 RENDIMIENTO DE OLIGOSACÁRIDOS

El rendimiento de los oligosacáridos obtenidos es un indicador de la eficiencia del proceso de autohidrólisis, donde se cuantifica la cantidad de hemicelulosa inicial que se transforma en oligosacárido. Las Figuras 6 a y b muestran los rendimientos para la borra y cáscara de café respectivamente a una relación biomasa/solvente 1:10 [g/g], donde se obtuvieron los valores más altos. Los oligosacáridos con mayor rendimiento en la borra de café es la suma de los MOS y GOS (67%), los cuales se encuentran agrupados ya que los tiempos de retención de la galactosa y la manosa fueron los mismos con el método y la columna de HPLC usada (ver Anexo B), por lo que al momento de cuantificar estos oligosacáridos no existe una distinción entre ellos. En este caso, al ser los componentes fundamentales de la hemicelulosa en esta biomasa son los que predominan en el rendimiento obtenido.

Figura 6. Rendimiento de oligosacáridos a partir de la borra (a) y la cáscara (b) de café. Relación sólido:solvente [g/g] 1:10



(a)



(b)

Por su parte, los AOS presentan su mayor rendimiento a las condiciones más bajas de operación; a medida que aumenta la temperatura y el tiempo de reacción, este rendimiento disminuye drásticamente. Este descenso ha sido atribuido por varios autores [27] [26] a la susceptibilidad de la arabinosa y sus respectivos oligómeros a degradarse a productos indeseados con facilidad. El bajo porcentaje de GLOS (1 a 2%) se debe a que su unidad fundamental (Glucosa) se localiza principalmente en la celulosa y para esta biomasa a las condiciones de operación trabajadas su despolimerización no se da en grandes cantidades.

La suma de los máximos rendimientos de los dos oligosacáridos más representativos en la cáscara de café (XOS y AOS) es del 65,7%. Los AOS en esta biomasa exhiben el mismo comportamiento anteriormente descrito a los efectos de la temperatura y tiempo de reacción, y presentan un rendimiento considerablemente alto con respecto al obtenido en la borra de café, debido al elevado contenido de arabinosa reportada en su caracterización.

Ambas biomásas presentan el máximo rendimiento a 190°C y 30 minutos de reacción, siendo que un aumento del tiempo de reacción a esta temperatura ocasiona una degradación de los oligosacáridos obtenidos.

En la Tabla 4 se presentan los rendimientos reportados por la literatura para varios procesos de autohidrólisis con diferentes biomásas a condiciones de operación similares a las empleadas en el presente estudio, es de resaltar que hasta el momento, los residuos de la cadena agroindustrial del café no habían sido utilizados para la obtención de oligosacáridos, por lo que no se logra hacer una comparación directa entre los rendimientos obtenidos y los reportados por la literatura. El rendimiento alcanzado por la cáscara de café hace de esta biomasa una fuente promisoría para la producción de xilooligosacáridos, los cuales luego de un proceso de purificación pueden alcanzar un precio en el mercado de 200 dólares/Kg [28].

Tabla 4. Rendimiento de oligosacáridos reportados por literatura

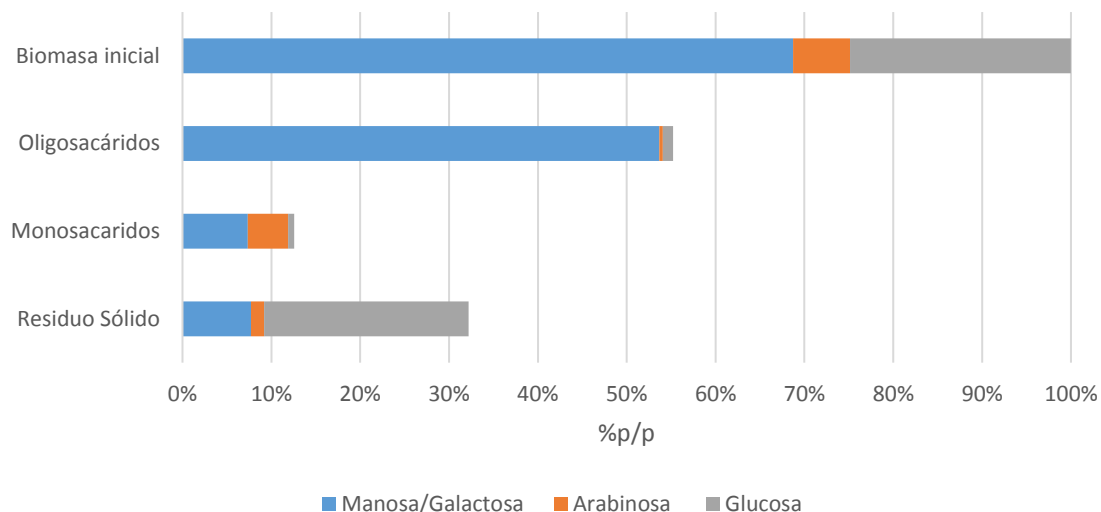
Oligosacárido	Biomasa	Condiciones	R_{Os}	Referencia
MOS/GOS	Borra de Café	190°C, 30 min	67	Este estudio
XOS+AOS	Cáscara de Café	190°C, 60 min	65,7	Este estudio
XOS*	Cáscara de almendra	179°C, 23 min	61,2	[23]
XOS*	Granos gastados de cebada	190°C, 5 min	61	[20]
XOS*	Mazorca	179°C, 23 min	59,4	[23]
XOS*	Semillas de olivo	179°C, 23 min	53,5	[23]
XOS*	Espelta de avena	180°C, 30 min	50,17	[18]
XOS*	Espelta de avena	200°C, 10 min	48,5	[18]
XOS*	Cáscara de arroz	179°C, 23 min	42,8	[23]
XOS*	Paja de trigo	179°C, 23 min	41,2	[23]
XOS*	Cáscara de cebada	145-190°C	27,1	[17]
XOS*	Mazorca	145-190°C	24,8	[17]
XOS*	Cáscara de arroz	145-190°C	18	[17]
XOS*	Madera de Eucalipto	145-190°C	15,4	[17]

*Los XOS considerados por la literatura son los oligosacáridos derivados de la hemicelulosa (xilooligosacáridos, arabinooligosacáridos).

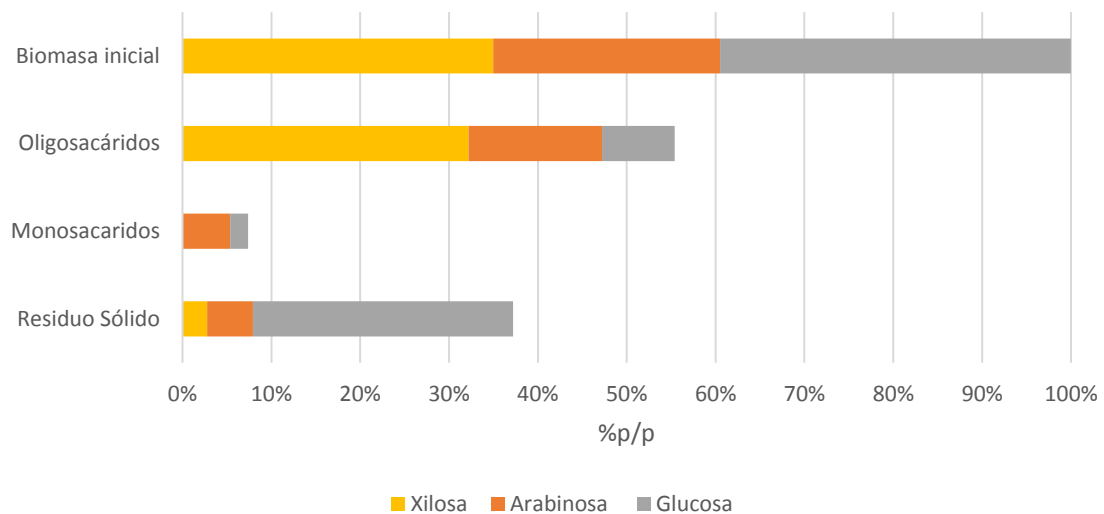
4.4 DISTRIBUCIÓN DE AZÚCARES DURANTE EL PROCESO. BALANCE DE MASA

Las Figuras 7 a y b presentan la distribución de los azúcares durante el proceso a las condiciones de mayor rendimiento obtenido (190°C, 30 minutos) para la borra y cáscara de café respectivamente. Los azúcares disueltos en el proceso de autohidrólisis se encuentran distribuidos en los monosacáridos y oligosacáridos presentes en el licor, y el porcentaje de azúcar restante permanece sin disolver en el residuo sólido del proceso. Es de resaltar que el balance de masa se realizó teniendo en cuenta la totalidad de la hemicelulosa y celulosa como referencia; por otra parte, los azúcares presentes en el sólido remanente fueron determinados por diferencia.

Figura 7. Distribución de azúcares en la borra (a) y la cáscara (b) de café obtenidos a 190°C, 30 minutos



(a)



(b)

Como puede observarse, en la borra de café, luego del proceso de autohidrólisis cerca del 80% de la manosa/galactosa contenido en la biomasa inicial se encuentra como oligosacárido, mientras el porcentaje restante está distribuido equitativamente en forma de monosacárido y en el residuo sólido. Por su parte, la arabinosa se presenta en mayor porcentaje como monosacárido dada su susceptibilidad a la degradación [26].

En el caso de la cáscara de café, casi la totalidad de la xilosa presente en el licor de autohidrólisis se encuentra en forma de oligosacárido (92%) y el 8% no disuelto en el residuo sólido; este porcentaje de xilosa que se obtiene como oligosacárido supera el obtenido con otras biomazas como 64,6% en la autohidrólisis de mazorca de maíz, el 67,11% en la de cáscara de almendra o el 55% en de carozos de olivas reportados por *Nabarlatz et al* [23], lo cual puede ser atribuido a la mayor facilidad en la extracción de la xilosa en la biomasa objeto de estudio. La glucosa para ambas biomazas presenta un porcentaje de disolución bajo, confirmando la poca degradación que sufre la celulosa en el proceso de

autohidrólisis reportado por diversos autores [15, 17] y su posible utilización en un proceso posterior.

5. CONCLUSIONES

- Los residuos de la cadena agroindustrial del café utilizados en este estudio, tales como la cáscara y la borra de café presentan un gran potencial para la obtención de oligosacáridos de valor agregado logrando obtener concentraciones de 20,00 y 28,43 [g/L] en el licor de autohidrólisis, respectivamente.
- La temperatura y tiempo de reacción tienen un efecto favorable en el rendimiento de los oligosacáridos obtenidos, pero afectan la pureza de estos en el licor de autohidrólisis, por lo que a condiciones de operación más drásticas se requerirá un proceso de purificación más estricto. Los datos experimentales y el análisis ANOVA comprueban que la variable con menor influencia en el rendimiento de extracción y de oligosacáridos es la relación biomasa/solvente.
- Las condiciones óptimas de operación para obtener el mayor rendimiento de oligosacáridos son 190°C y 30 minutos, alcanzando rendimientos del 67% para la suma de MOS/GOS en la borra de café y 65,7% para los XOS/AOS en la cáscara de café.
- Los rendimientos de oligosacáridos obtenidos para las dos biomásas demuestran una mayor eficiencia del proceso de autohidrólisis utilizado con respecto a las biomásas reportadas por la literatura.
- De acuerdo a los resultados presentados, se evidencia que la cáscara de café es una biomasa susceptible a una mayor extracción de los azúcares en forma de oligómeros, dando como resultado una extracción máxima del 92% de la xilosa presente en la materia prima, resaltando el gran valor comercial que pueden alcanzar estos oligómeros.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- [1] FEDERACION NACIONAL DE CAFETEROS [sitio web] . La Gente del Café. [Consultado 10 Noviembre 2016]. Disponible en:
http://www.cafedecolombia.com/particulares/es/la_tierra_del_cafe/la_gente_del_cafe/.
- [2] CENICAFE [sitio web] .Manejo de Subproductos. [Consultado 10 Noviembre 2016]. Disponible en:
http://www.cenicafe.org/es/index.php/cultivemos_cafe/manejo_de_subproductos.
- [3] SUAREZ, J. Aprovechamiento de los residuos sólidos provenientes del beneficio del café, en el municipio de Betania Antioquia: Usos y Aplicaciones. Trabajo de grado Especialista en Gestión Integral de Residuos Sólidos y Peligrosos. Caldas, Antioquia. Corporacion Universitaria LaSallista, 2012.
- [4] PATEL, S; GOYAL, A. Functional oligosaccharides: production, properties and applications. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. May 2011, vol 27, 5, 1119-1128,. ISSN: 09593993
- [5] OTIENO, DO; AHRING, BK. The potential for oligosaccharide production from the hemicellulose fraction of biomasses through pretreatment processes: xylooligosaccharides (XOS), arabinooligosaccharides (AOS), and mannoooligosaccharides (MOS). *Carbohydrate Research*. Oct. 15, 2012. vol 360, 84-92,. ISSN: 00086215.
- [6] MURTHY, P; NAIDU, M. Sustainable management of coffee industry by-products and value addition-A review. *Resources, Conservation and Recycling*. Sept. 1, 2012. vol 66, 45-58.
- [7] MUSSATTO, SI; MANCILHA, IM. Review: Non-digestible oligosaccharides: A review. *Carbohydrate Polymers*. 2007. vol 68, 587-597, ISSN: 0144-8617.
- [8] VERNAZZA, C; GIBSON, G; RASTALL, R. In vitro fermentation of chitosan derivatives by mixed cultures of human faecal bacteria. *Carbohydrate Polymers*. 2005. vol 60, 539-545. ISSN: 0144-8617.
- [9] QIANG, X; YONGLIE, C; QIANBING, W. Review: Health benefit application of functional oligosaccharides. *Carbohydrate Polymers*. 2009. vol 77, 435-441,. ISSN: 0144-8617.
- [10] PÉREZ, J; et al. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview. *International Microbiology: The Official Journal Of The Spanish Society For Microbiology*. 2002. vol 5, 2, 53-63,. ISSN: 1139-6709.
- [11] OCHOA, M; AISPURO, E; VARGAS, I; MARTINEZ, M. Plant Cell Wall Polymers: Function, Structure and Biological Activity of Their Derivatives. En *Polymerization*. Intech, 2012. ISBN 978-953-51-0745-3

- [12] EBRINGEROVÁ, A; HROMÁDKOVÁ, Z; HEINZE, T. Hemicellulose. En *Polysaccharides I*, Berlin, Springer, 2005, pp. 1-67.
- [13] FERRAZ, F; SILVA, S. Characterization of coffee husk biomass for biotechnological purposes. *New Biotechnology*. 2009. vol. 25 , p. S256.
- [14] BALLESTEROS, L; TEIXEIRA, J; MUSSATTO, S. Chemical, Functional, and Structural Properties of Spent Coffee Grounds and Coffee Silverskin. *Food and Bioprocess Technology*. 2014. vol 7, 12, 3493-3503
- [15] SANABRIA, Javier. Caracterización de biomasa residual agrícola para la evaluación de su uso como materia prima en la producción de oligosacáridos. Trabajo de Grado de Ingeniero Químico. Bucaramanga. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga., 2016.
- [16] SOLEDAD, M; PUENTES, J; SANCHEZ, S; MOYA, A. Oligosaccharides and monomeric carbohydrates production from olive tree pruning biomass. *Carbohydrate Polymers*. 2013. vol 93, 416-423, ISSN: 0144-8617.
- [17] CARVALHO, A; NETO, P; DA SILVA, D; PASTORE, G. Review: Xylo-oligosaccharides from lignocellulosic materials: Chemical structure, health benefits and production by chemical and enzymatic hydrolysis. *Food Research International*. 2013. vol 51, 75-85. ISSN: 0963-9969.
- [18] PARAJÓ, J; GARROTE, G; CRUZ, J; DOMINGUEZ, H. Review: Production of xylooligosaccharides by autohydrolysis of lignocellulosic materials. *Trends in Food Science & Technology*. 2004. vol 15, 115-120. ISSN: 0924-2244.
- [19] LI, X; CONVERSE, AO; WYMAN, CE. Characterization of molecular weight distribution of oligomers from autocatalyzed batch hydrolysis of xylan. *Applied Biochemistry And Biotechnology*. 2003. vol 105 -108, 515-522, ISSN: 0273-2289.
- [20] NABARLATZ, D; FARRIOL, X; MONTANE, D. Kinetic Modeling of the Autohydrolysis of Lignocellulosic Biomass for the Production of Hemicellulose-Derived Oligosaccharides. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2004. vol 43, 15, 4124, ISSN: 08885885.
- [21] CARVALHEIRO, F; ESTEVES, M; PARAJÓ, J; PEREIRA, H; GIRIO, F. Production of oligosaccharides by autohydrolysis of brewery's spent grain. *Bioresource Technology*. 2004. vol 91, 93-100. ISSN: 0960-8524.
- [22] BALLESTEROS, LF; TEIXEIRA, JA; MUSSATTO, SI. Extraction of polysaccharides by autohydrolysis of spent coffee grounds and evaluation of their antioxidant activity. *Carbohydrate Polymers*. 2017. vol 157, 258-266. ISSN: 0144-8617.
- [23] TUNC, M. Effect of Liquid to Solid Ratio on Autohydrolysis of Eucalyptus globulus Wood Meal. *BioResources*. 2014. Vol 9, 2, Pp 3014-3024. ISSN: 1930-2126.

- [24] NABARLATZ, D; EBRINGEROVÁ, A; MONTANÉ, D. Autohydrolysis of agricultural by-products for the production of xylo-oligosaccharides. *Carbohydrate Polymers*. 2007. Vol 69, 20-28,. ISSN: 0144-8617.
- [25] ROGALINSKI, T; INGRAM, T; BRUNNER, G. Hydrolysis of lignocellulosic biomass in water under elevated temperatures and pressures. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2008. Vol 47, 54-63. ISSN: 0896-8446.
- [26] GARROTE, G; CRUZ, J; Domínguez, H; PARAJÓ, J. Non-isothermal autohydrolysis of barley husks: product distribution and antioxidant activity of ethyl acetate soluble fractions. *Journal Of Food Engineering*. 2008; Vol 84, 4, 544-552.
- [27] OTIENO, DO; AHRING, BK. A thermochemical pretreatment process to produce xylooligosaccharides (XOS), arabinooligosaccharides (AOS) and mannoooligosaccharides (MOS) from lignocellulosic biomasses. *Bioresource Technology*. 2012. Vol 112, 285-292. ISSN: 0960-8524.
- [28] GARROTE, G; Dominguez, H; PARAJÓ, J. Production of Substituted Oligosaccharides by Hydrolytic Processing of Barley Husks. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2004. Vol 43, 7, 1608. ISSN: 08885885.
- [29] SINGH, R; BANERJEE, J; ARORA, A. Prebiotic potential of oligosaccharides: A focus on xylan derived oligosaccharides. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*. 2015. vol. 5, pp. 19-30.

BIBLIOGRAFIA

BALLESTEROS, L; TEIXEIRA, J; MUSSATTO, S. Chemical, Functional, and Structural Properties of Spent Coffee Grounds and Coffee Silverskin. Food and Bioprocess Technology. 2014. vol 7, 12, 3493-3503

BALLESTEROS, LF; TEIXEIRA, JA; MUSSATTO, SI. Extraction of polysaccharides by autohydrolysis of spent coffee grounds and evaluation of their antioxidant activity. Carbohydrate Polymers. 2017. vol 157, 258-266. ISSN: 0144-8617.

CARVALHEIRO, F; ESTEVES, M; PARAJÓ, J; PEREIRA, H; GIRIO, F. Production of oligosaccharides by autohydrolysis of brewery's spent grain. Bioresource Technology. 2004. vol 91, 93-100. ISSN: 0960-8524.

CARVALHO, A; NETO, P; DA SILVA, D; PASTORE, G. Review: Xylo-oligosaccharides from lignocellulosic materials: Chemical structure, health benefits and production by chemical and enzymatic hydrolysis. Food Research International. 2013. vol 51, 75-85. ISSN: 0963-9969.

CENICAFE [sitio web] .Manejo de Subproductos. [Consultado 10 Noviembre 2016]. Disponible en: http://www.cenicafe.org/es/index.php/cultivemos_cafe/manejo_de_subproductos.

EBRINGEROVÁ, A; HROMÁDKOVÁ, Z; HEINZE, T. Hemicellulose. En Polysaccharides I, Berlin, Springer, 2005, pp. 1-67.

FEDERACION NACIONAL DE CAFETEROS [sitio web]. La Gente del Café. [Consultado 10 Noviembre 2016]. Disponible en: http://www.cafedecolombia.com/particulares/es/la_tierra_del_cafe/la_gente_del_cafe/.

FERRAZ, F; SILVA, S. Characterization of coffee husk biomass for biotechnological purposes. *New Biotechnology*. 2009. vol. 25 , p. S256.

GARROTE, G; CRUZ, J; Domínguez, H; PARAJÓ, J. Non-isothermal autohydrolysis of barley husks: product distribution and antioxidant activity of ethyl acetate soluble fractions. *Journal Of Food Engineering*. 2008; Vol 84, 4, 544-552.

GARROTE, G; Dominguez, H; PARAJÓ, J. Production of Substituted Oligosaccharides by Hydrolytic Processing of Barley Husks. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2004. Vol 43, 7, 1608. ISSN: 08885885.

LI, X; CONVERSE, AO; WYMAN, CE. Characterization of molecular weight distribution of oligomers from autocatalyzed batch hydrolysis of xylan. *Applied Biochemistry And Biotechnology*. 2003. vol 105 -108, 515-522, ISSN: 0273-2289.

MURTHY, P; NAIDU, M. Sustainable management of coffee industry by-products and value addition-A review. *Resources, Conservation and Recycling*. Sept. 1, 2012. vol 66, 45-58.

MUSSATTO, SI; MANCILHA, IM. Review: Non-digestible oligosaccharides: A review. *Carbohydrate Polymers*. 2007. vol 68, 587-597, ISSN: 0144-8617.

NABARLATZ, D; EBRINGEROVÁ, A; MONTANÉ, D. Autohydrolysis of agricultural by-products for the production of xylo-oligosaccharides. *Carbohydrate Polymers*. 2007. Vol 69, 20-28,. ISSN: 0144-8617.

NABARLATZ, D; FARRIOL, X; MONTANE, D. Kinetic Modeling of the Autohydrolysis of Lignocellulosic Biomass for the Production of Hemicellulose-Derived Oligosaccharides. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2004. vol 43, 15, 4124, ISSN: 08885885.

OCHOA, M; AISPURO, E; VARGAS, I; MARTINEZ, M. Plant Cell Wall Polymers: Function, Structure and Biological Activity of Their Derivatives. En *Polymerization*. Intech, 2012. ISBN 978-953-51-0745-3

OTIENO, DO; AHRING, BK. A thermochemical pretreatment process to produce xylooligosaccharides (XOS), arabinooligosaccharides (AOS) and mannoooligosaccharides (MOS) from lignocellulosic biomasses. *Bioresource Technology*. 2012. Vol 112, 285-292. ISSN: 0960-8524.

OTIENO, DO; AHRING, BK. The potential for oligosaccharide production from the hemicellulose fraction of biomasses through pretreatment processes: xylooligosaccharides (XOS), arabinooligosaccharides (AOS), and mannoooligosaccharides (MOS). *Carbohydrate Research*. Oct. 15, 2012. vol 360, 84-92,. ISSN: 00086215.

PARAJÓ, J; GARROTE, G; CRUZ, J; DOMINGUEZ, H. Review: Production of xylooligosaccharides by autohydrolysis of lignocellulosic materials. *Trends in Food Science & Technology*. 2004. vol 15, 115-120. ISSN: 0924-2244.

PATEL, S; GOYAL, A. Functional oligosaccharides: production, properties and applications. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. May 2011, vol 27, 5, 1119-1128,. ISSN: 09593993

PÉREZ, J; et al. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview. *International Microbiology: The Official*

Journal Of The Spanish Society For Microbiology. 2002. vol 5, 2, 53-63,. ISSN: 1139-6709.

QIANG, X; YONGLIE, C; QIANBING, W. Review: Health benefit application of functional oligosaccharides. Carbohydrate Polymers. 2009. vol 77, 435-441,. ISSN: 0144-8617.

ROGALINSKI, T; INGRAM, T; BRUNNER, G. Hydrolysis of lignocellulosic biomass in water under elevated temperatures and pressures. The Journal of Supercritical Fluids. 2008. Vol 47, 54-63. ISSN: 0896-8446.

SANABRIA, Javier. Caracterización de biomasa residual agrícola para la evaluación de su uso como materia prima en la producción de oligosacáridos. Trabajo de Grado de Ingeniero Químico. Bucaramanga. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga:, 2016.

SINGH, R; BANERJEE, J; ARORA, A. Prebiotic potential of oligosaccharides: A focus on xylan derived oligosaccharides. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre. 2015. vol. 5, pp. 19-30.

SOLEDAD, M; PUENTES, J; SANCHEZ, S; MOYA, A. Oligosaccharides and monomeric carbohydrates production from olive tree pruning biomass. Carbohydrate Polymers. 2013. vol 93, 416-423, ISSN: 0144-8617.

SUAREZ, J. Aprovechamiento de los residuos sólidos provenientes del beneficio del café, en el municipio de Betania Antioquia: Usos y Aplicaciones. Trabajo de grado Especialista en Gestión Integral de Residuos Sólidos y Peligrosos. Caldas, Antioquia. Corporacion Universitaria LaSallista, 2012.

TUNC, M. Effect of Liquid to Solid Ratio on Autohydrolysis of Eucalyptus globulus Wood Meal. BioResources. 2014. Vol 9, 2, Pp 3014-3024. ISSN: 1930-2126.

VERNAZZA, C; GIBSON, G; RASTALL, R. In vitro fermentation of chitosan derivatives by mixed cultures of human faecal bacteria. Carbohydrate Polymers. 2005. vol 60, 539-545. ISSN: 0144-8617.

ANEXOS.

Anexo A. Perfiles de temperatura en los reactores

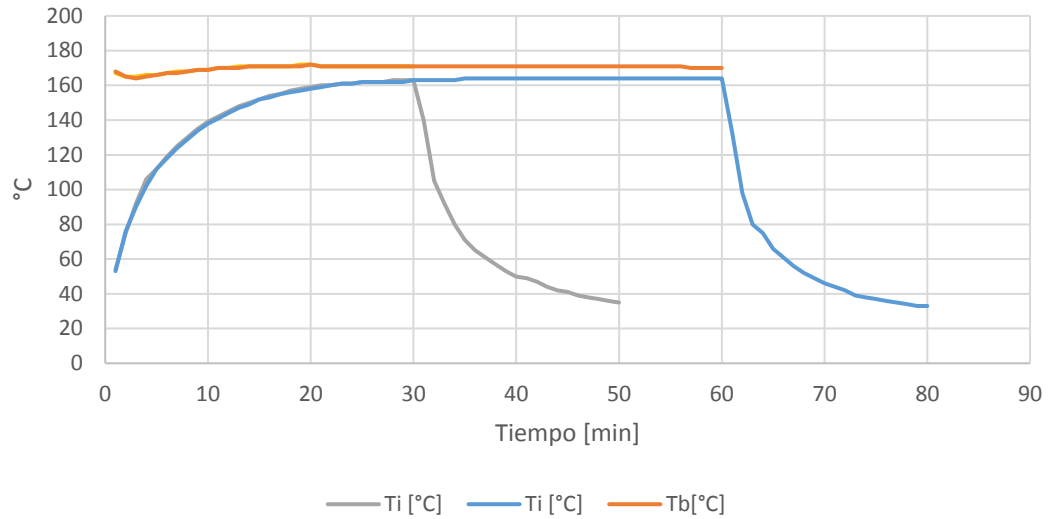


Figura A 1. Perfil de temperatura de los experimentos a 170°C. Temperatura interna del reactor (Ti). Temperatura del baño de aceite (Tb)

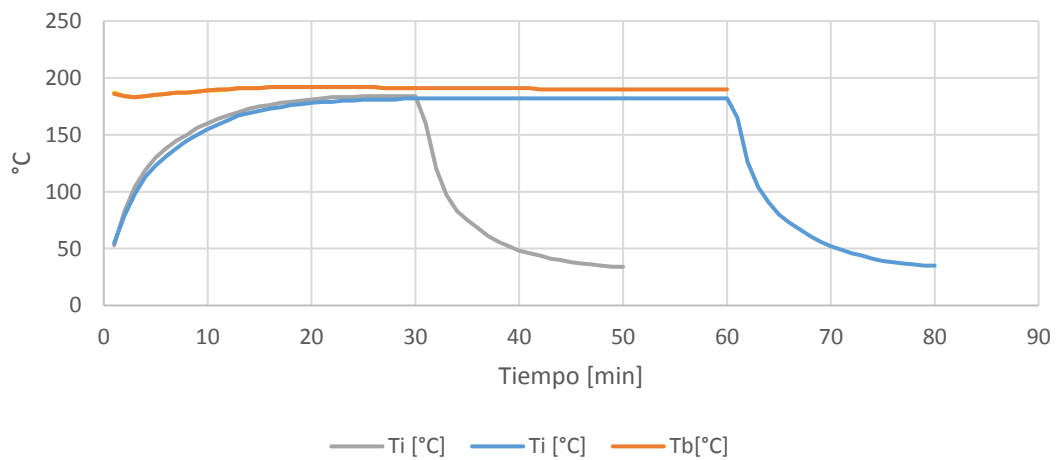


Figura A 2. Perfil de temperatura de los experimentos a 190°C. Temperatura interna del reactor (Ti). Temperatura del baño de aceite (Tb)

Anexo B. Curvas de calibración HPLC

- **Glucosa**

Tiempo de retención: 9,09 [min]

Concentración real [g/L]	Área HPLC
0,11	29101
0,48	132691
0,98	251714
1,98	509812
3,01	786469
3,99	1118794

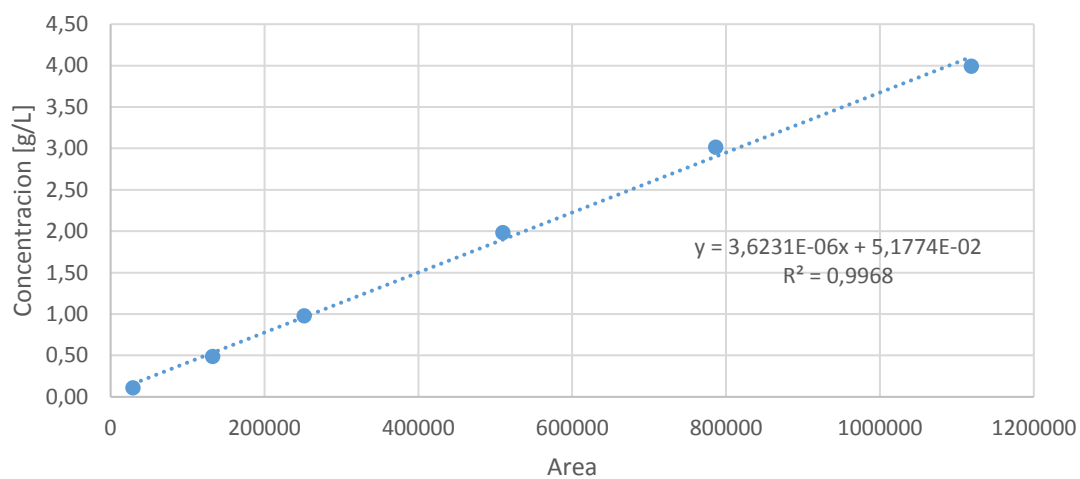


Figura B 1. Curva de calibración de la glucosa

- **Manosa**

Tiempo de retención: 9,64 [min]

Concentración real [g/L]	Área HPLC
0,10	28172
0,49	134062
0,99	265313
2,01	533236
3,01	785905
3,98	1383592

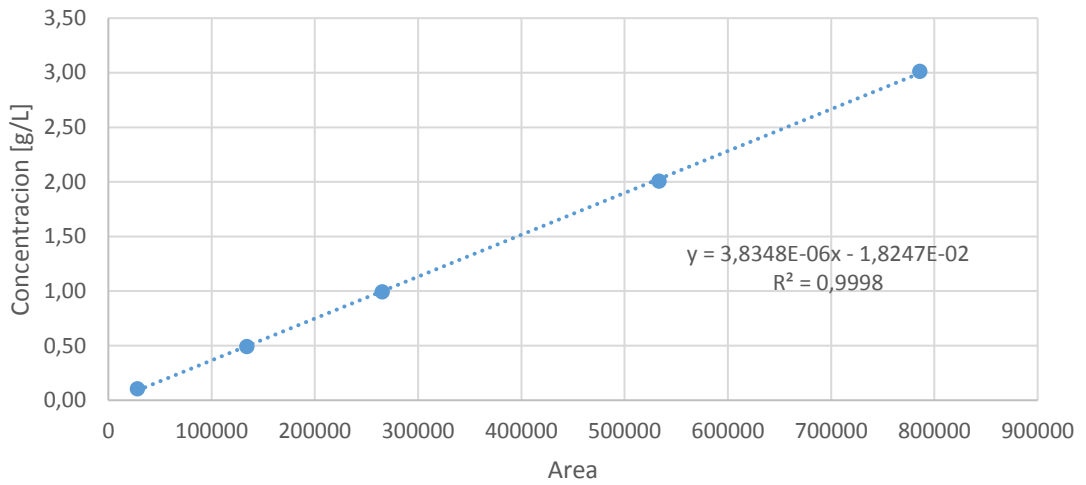


Figura B 2. Curva de calibración de la Manosa.

- **Galactosa**

Tiempo de retención: 9,64 [min]

Concentración real [g/L]	Área HPLC
0,09	23834
0,48	129121
2,00	539854
3,02	814809
4,00	1051360

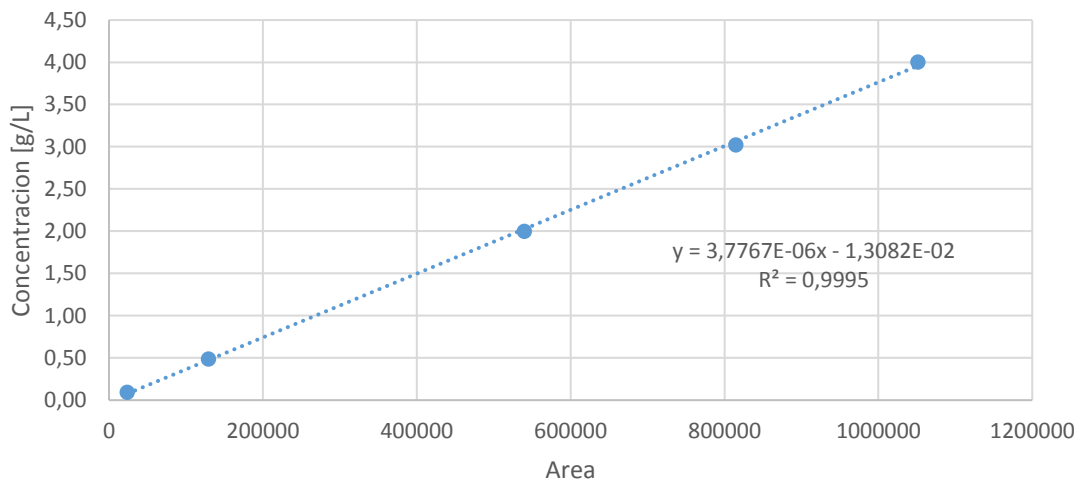


Figura B 3. Curva de calibración de la galactosa

- **Xilosa**

Tiempo de retención: 9,73 [min]

Concentración real [g/L]	Área HPLC
0,12	20658
0,49	121777
0,98	240593
2,00	497253
3,03	717631
4,01	1066704

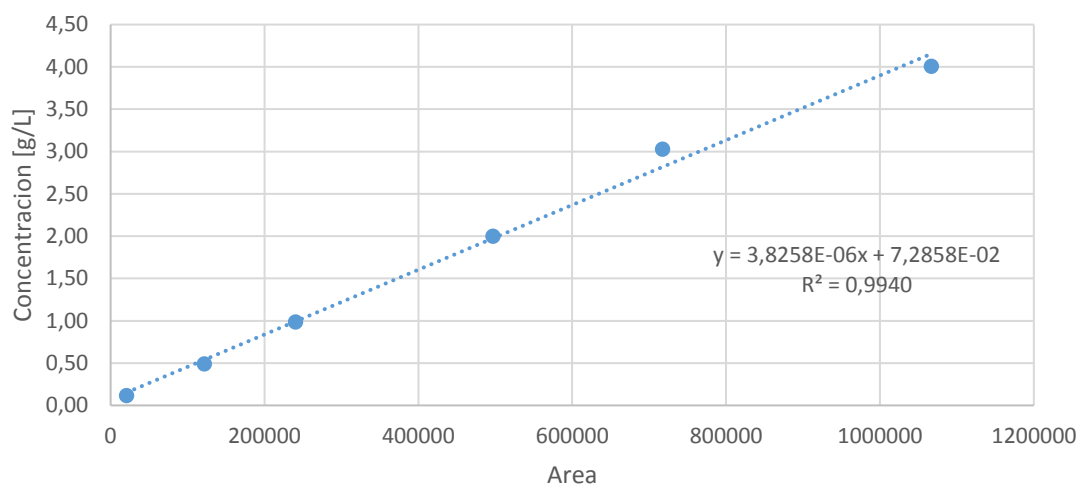


Figura B 4. Curva de calibración de la xilosa.

- **Arabinosa**

Tiempo de retención: 10,56 [min]

Concentración real [g/L]	Área HPLC
0,10	26216
0,50	136630
1,00	260546
1,99	525318
3,00	772935
3,96	1077218

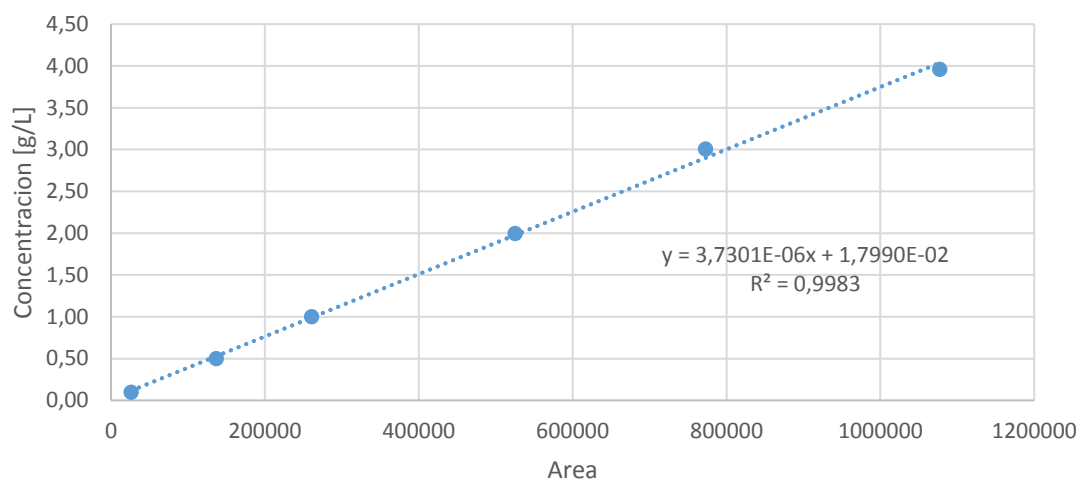


Figura B 5. Curva de calibración de la arabinosa.

- **Ácido Acético**

Tiempo de retención: 10,56 [min]

Concentración ideal [g/L]	Área HPLC
0,10	8106
0,50	57353
1,00	102648
2,00	235461
3,00	257291
4,00	479543

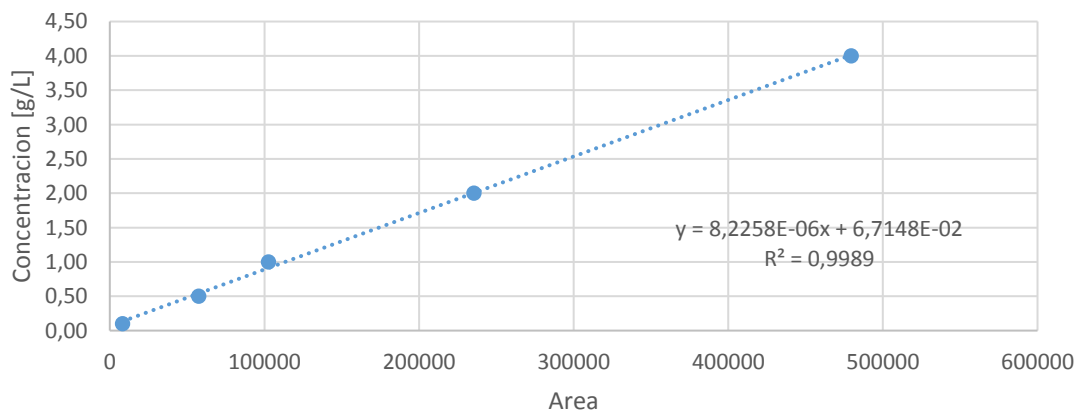


Figura B 6. Curva de calibración del ácido acético

- **Fructosa**

Tiempo de retención: 9,77 [min]

Concentración ideal [g/L]	Área HPLC
0,11	28689
0,46	125471
2,00	550864
3,03	829323
4,00	1097938

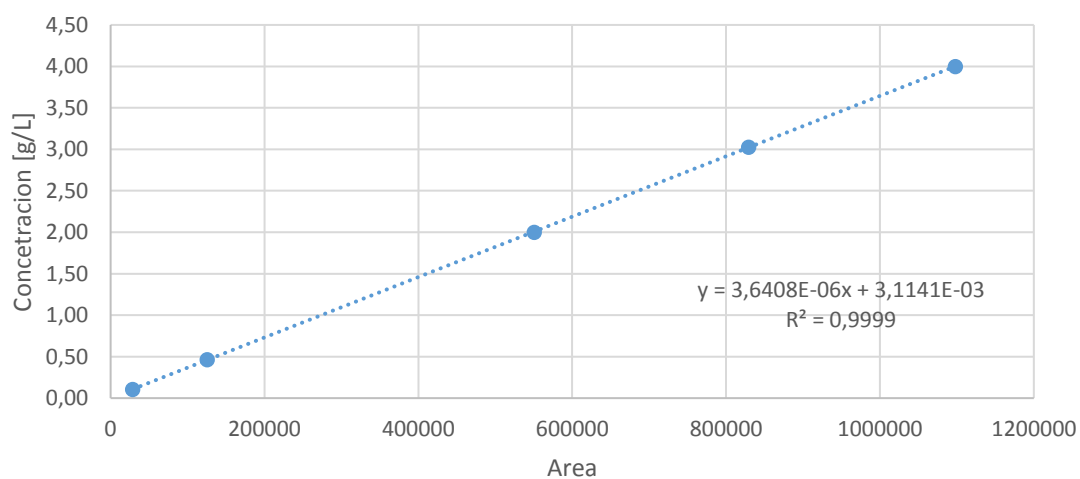


Figura B 7. Curva de calibración de la fructosa

- **Ramnosa**

Tiempo de retención: 10,30 [min]

Concentración ideal [g/L]	Área HPLC
0,10	25333
1,00	244464
1,99	488363
3,00	757204
3,91	1191791

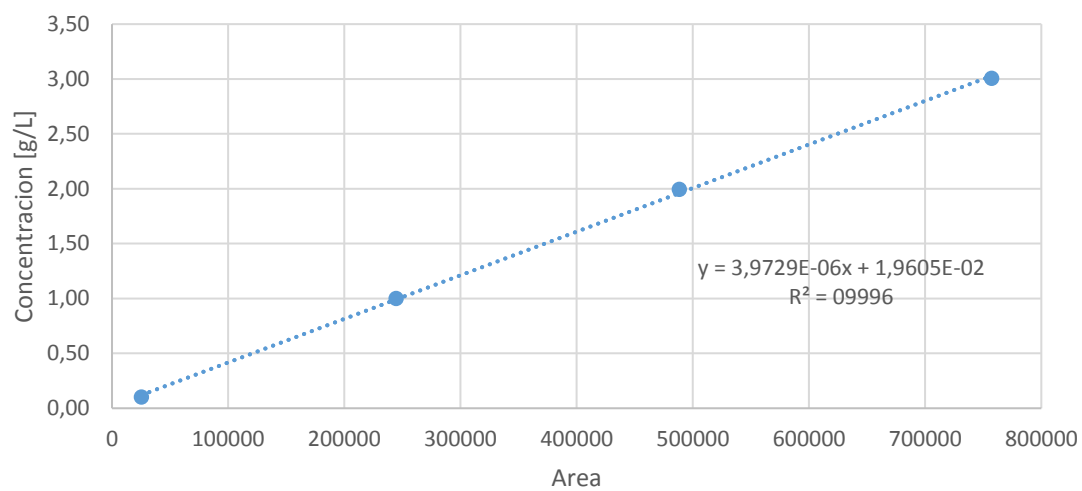


Figura B 8. Curva de calibración de la ramnosa

Anexo C. Análisis de varianza sobre el porcentaje de masa disuelta para cada biomasa.

Tabla C 1. Análisis de Varianza (ANOVA) para el porcentaje de masa disuelta en la borra de café.

Variable	SC	GL	CM	F	p-valor
Temperatura	0,0600	1	0,0600	302,40	<0,0001
Tiempo	0,0100	1	0,0100	50,35	0,0001
Relación	0,0002	1	0,0002	1,26	0,2939
Temperatura x tiempo	0,0010	1	0,0010	5,31	0,0502
Temperatura x Relación	<0,0001	1	<0,0001	0,08	0,7853
Tiempo x Relación	<0,0001	1	<0,0001	0,32	0,5886
Interacción triple	0,0009	1	0,0009	4,40	0,0693
Error	0,0016	8	0,0002		
Total	0,07	15			

Tabla C 2. Análisis de Varianza (ANOVA) para el porcentaje de masa disuelta en la cáscara de café.

Variable	SC	GL	CM	F	p-valor
Temperatura	0,01	1	0,01	6,85	0,0108
Tiempo	0,01	1	0,01	10,91	0,0318
Relación	0,01	1	0,01	6,74	0,0189
Temperatura x tiempo	0,01	1	0,01	8,61	0,0104
Temperatura x Relación	0,0007	1	0,0007	11,09	0,4264
Tiempo x Relación	0,0008	1	0,0008	0,70	0,3927
Interacción triple	0,01	1	0,01	0,82	0,0168
Error	0,01	8	0,0009		
Total	0,05	15		9,05	

Anexo D. Composición del licor de autohidrólisis

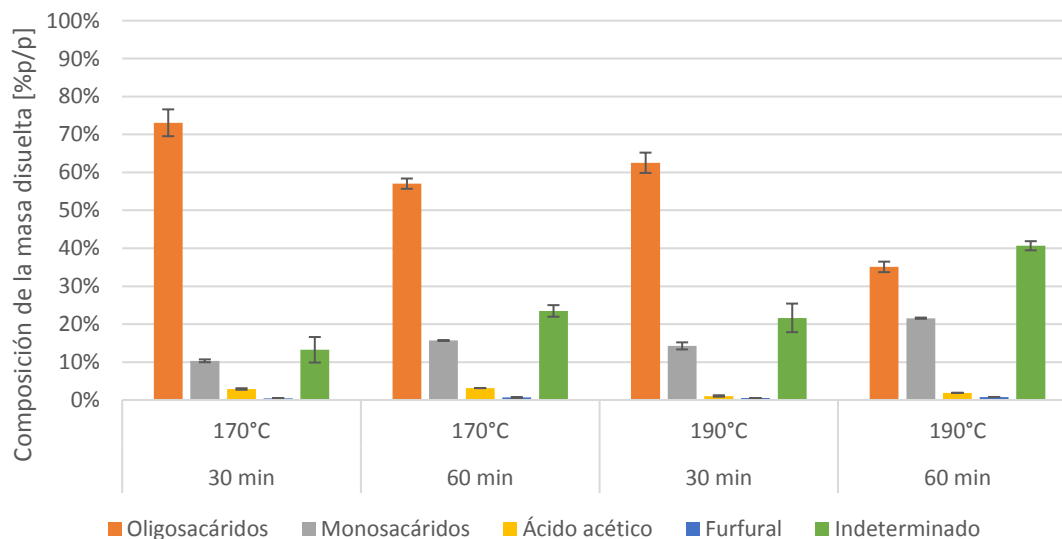
Tabla D 1. Composición [%p/p de la masa disuelta] del licor de autohidrólisis en cada uno de los experimentos.

Borra de café									
Experimento	GLOS	MOS		AOS	Monosacáridos	Ácido acético	Furfural	Indeterminado	
		GOS							
B.170.30.8	1,7 ± 0,27	74,9 ± 5,67		4,7 ± 0,96	11,0 ± 0,15	3,1 ± 0,04	0,4 ± 0,02	4,2 ± 7,25	
B.170.60.8	1,3 ± 0,02	55,1 ± 0,00		0,7 ± 0,01	10,9 ± 0,07	2,0 ± 0,11	0,5 ± 0,02	29,5 ± 0,20	
B.190.30.8	1,3 ± 0,08	61,4 ± 4,10		0,0 ± 0,01	14,6 ± 0,03	2,4 ± 0,67	0,5 ± 0,08	19,8 ± 5,00	
B.190.60.8	0,7 ± 0,04	28,9 ± 0,07		0,2 ± 0,09	22,5 ± 0,15	1,9 ± 0,05	0,8 ± 0,00	45,0 ± 0,37	
B.170.30.10	1,5 ± 0,01	68,1 ± 2,83		3,5 ± 0,13	10,3 ± 0,37	2,9 ± 0,20	0,4 ± 0,00	13,3 ± 3,37	
B.170.60.10	1,4 ± 0,03	55,9 ± 1,21		0,0 ± 0,03	15,7 ± 0,08	3,1 ± 0,02	0,7 ± 0,07	23,2 ± 1,53	
B.190.30.10	1,3 ± 0,11	60,8 ± 2,44		0,4 ± 0,12	14,3 ± 0,93	1,1 ± 0,19	0,5 ± 0,03	21,6 ± 3,77	
B.190.60.10	0,4 ± 0,00	34,4 ± 0,78		0,2 ± 0,19	21,6 ± 0,16	1,9 ± 0,02	0,8 ± 0,00	40,7 ± 1,21	
Cáscara de café									
Experimento	GLOS	XOS	AOS	Monosacáridos	Ácido Acético	Furfural	Indeterminado		
C.170.30.8	7,9 ± 0,11	16,8 ± 0,39	24,8 ± 0,29	2,8 ± 0,00	3,3 ± 0,06	0 ± 0,00	44,4 ± 0,85		
C.170.60.8	5,4 ± 0,59	18,2 ± 7,30	12,7 ± 0,89	5,5 ± 0,25	4,1 ± 0,19	0,2 ± 0,00	53,8 ± 9,23		
C.190.30.8	6,5 ± 0,04	16,5 ± 0,08	14,3 ± 0,94	5,6 ± 0,05	4,6 ± 0,05	0,2 ± 0,02	52,2 ± 0,78		
C.190.60.8	4,4 ± 0,11	11,4 ± 0,73	4,6 ± 0,2	3,3 ± 0,29	6,8 ± 0,33	0,6 ± 0,04	68,8 ± 1,70		
C.170.30.10	6,3 ± 0,35	14,2 ± 1,16	21,8 ± 1,14	2,5 ± 0,06	2,9 ± 0,04	0 ± 0,00	52,4 ± 2,67		
C.170.60.10	5,9 ± 0,00	19,2 ± 6,16	12,8 ± 0,51	5,9 ± 0,16	4,2 ± 0,37	0,3 ± 0,01	51,7 ± 6,45		
C.190.30.10	5,6 ± 0,58	21,9 ± 1,72	10,2 ± 0,67	5 ± 0,20	4,6 ± 0,17	0,3 ± 0,02	52,5 ± 3,33		
C.190.60.10	4,1 ± 0,41	9,00 ± 0,26	5,20 ± 0,13	0,5 ± 0,64	5,9 ± 0,03	0,6 ± 0,05	74,7 ± 0,55		

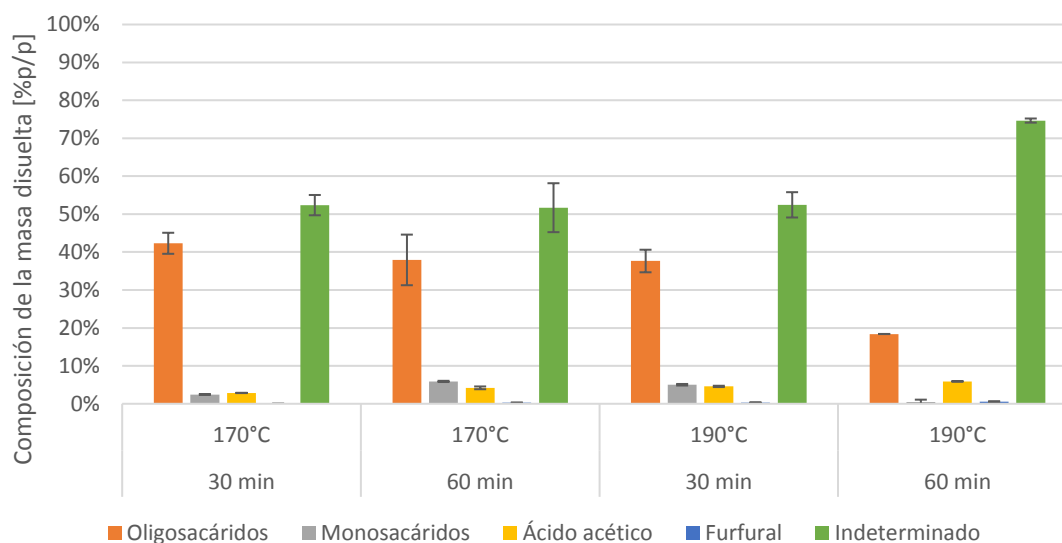
Tabla D 2. Concentración de cada compuesto [en g/L] del licor del autohidrólisis en cada uno de los experimentos.

Borra de café						
Experimento	Oligosacáridos	Monosacáridos	Ácido acético	Furfural	Indeterminado	
B.170.30.8	21,56 ± 1,98	2,92 ± 0,04	0,82 ± 0,01	0,11 ± 0,01	1,11 ± 1,92	
B.170.60.8	21,17 ± 0,07	4,06 ± 0,02	0,75 ± 0,04	0,20 ± 0,01	10,91 ± 0,07	
B.190.30.8	28,43 ± 1,92	6,64 ± 0,01	1,09 ± 0,30	0,24 ± 0,03	8,96 ± 2,27	
B.190.60.8	14,37 ± 0,23	10,83 ± 0,07	0,93 ± 0,03	0,37 ± 0,00	21,73 ± 0,18	
B.170.30.10	17,30 ± 0,84	2,44 ± 0,09	0,69 ± 0,05	0,10 ± 0,00	3,13 ± 0,80	
B.170.60.10	16,19 ± 0,38	4,45 ± 0,02	0,89 ± 0,01	0,19 ± 0,02	6,67 ± 0,43	
B.190.30.10	22,64 ± 0,97	5,16 ± 0,34	0,38 ± 0,07	0,18 ± 0,01	7,84 ± 1,36	
B.190.60.10	14,26 ± 0,56	8,76 ± 0,06	0,77 ± 0,01	0,32 ± 0,00	16,52 ± 0,49	
Cáscara de café						
Experimento	Oligosacáridos	Monosacáridos	Ácido Acético	Furfural	Indeterminado	
C.170.30.8	17,92 ± 0,29	1,02 ± 0,00	1,18 ± 0,02	0 ± 0,00	16,04 ± 0,31	
C.170.60.8	20,06 ± 4,85	3,04 ± 0,14	2,26 ± 0,11	0,12 ± 0,00	29,65 ± 5,09	
C.190.30.8	19,84 ± 0,43	2,95 ± 0,03	2,47 ± 0,03	0,11 ± 0,01	27,76 ± 0,42	
C.190.60.8	9,75 ± 0,50	1,58 ± 0,14	3,25 ± 0,16	0,27 ± 0,02	32,80 ± 0,81	
C.170.30.10	16,16 ± 1,06	0,94 ± 0,02	1,09 ± 0,01	0 ± 0,00	20,00 ± 1,02	
C.170.60.10	15,66 ± 2,76	2,43 ± 0,06	1,73 ± 0,15	0,12 ± 0,00	21,35 ± 2,66	
C.190.30.10	16,97 ± 1,34	2,26 ± 0,09	2,06 ± 0,08	0,14 ± 0,01	23,64 ± 1,50	
C.190.60.10	8,68 ± 0,01	0,21 ± 0,30	2,78 ± 0,01	0,27 ± 0,02	35,24 ± 0,26	

Anexo E. Composición del licor de autohidrólisis. Relación biomasa:solvente 1:10



(a)



(b)

Figura E 1. Composición del licor de autohidrólisis de la borra (a) y la cáscara (b) del café. Relación sólido:solvente 1:10 [g/g].

Anexo F. Análisis de varianza sobre el rendimiento de oligosacáridos

Tabla F 1. Análisis de Varianza (ANOVA) del rendimiento de oligosacáridos en la borra de café

Variable	SC	GL	CM	F	p-valor
Temperatura	0,0027	7	0,0027	33,46	0,1051
Tiempo	0,1	1	0,1000	3,34	<0,0001
Relación	0,0009	1	0,0009	125,94	0,3090
Temperatura x tiempo	0,08	1	0,08	1,18	<0,0001
Temperatura x Relación	0,0025	1	0,0025	95,67	0,1177
Tiempo x Relación	0,0011	1	0,0011	3,07	0,2829
Interacción triple	0,0030	1	0,0030	1,33	0,0904
Error	0,0100	8	0,0008	3,71	
Total	0,2000	15			

Tabla F 2. Análisis de Varianza (ANOVA) del rendimiento de oligosacáridos en la cáscara de café-

Variable	SC	GL	CM	F	p-valor
Temperatura	0,0900	1	0,0900	12,83	0,0072
Tiempo	0,1200	1	0,1200	17,74	0,0029
Relación	0,0100	1	0,0100	0,91	0,3687
Temperatura x tiempo	0,1600	1	0,1600	23,88	0,0012
Temperatura x Relación	0,0001	1	0,0001	0,02	0,8877
Tiempo x Relación	0,0030	1	0,0030	0,45	0,5202
Interacción triple	0,0021	1	0,0021	0,31	0,5930
Error	0,0500	8	0,0500		
Total	0,4300	15			