

**Análisis de las variables del proceso de ultrafiltración en la separación de xilo-
oligosacáridos (XOs) presentes en hidrolizados de pergamino de café**

**Angélica Yiseth Ardila Sánchez
Yulieth Vanessa Pacheco Vasquez**

Trabajo de grado para optar por el título de Ingeniero químico

Director

**Carlos Jesús Muvdi Nova
Ph. D. en Ingeniería de Procesos**

Codirector

**Rolando Andrés Acosta Fernández
M.Sc. en Ingeniería Química**

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ingenierías Físicoquímicas

Escuela de Ingeniería Química

Bucaramanga

2018

Dedicatoria

A Dios, por darme paciencia, sabiduría y consistencia para cumplir esta meta propuesta en mi vida. Él siempre fue mi luz y mi guía en los momentos en que más pérdida me sentía.

A mis padres, Marta Inés Sánchez Gómez y Raúl Ardila Bautista, por ser el motor en mi vida, porque siempre me motivaron a cumplir mis sueños y me apoyaron en cada paso de mi carrera. Gracias a ellos soy la persona que soy y estoy orgullosa de ello.

A mis hermanos, que siempre estuvieron conmigo acompañándome en cada momento, siempre fueron apoyo en mi vida y a pesar que tenemos nuestras diferencias siempre nos apoyamos en todo.

A mis amigos de la carrera, quienes sin esperar nada a cambio compartieron sus conocimientos, alegrías y tristezas, apoyándome durante estos 5 años en los cuales se formaron lazos de amistad que durarán toda la vida.

A mis amigos de toda la vida, que a pesar de la distancia siempre estuvieron presentes en mi corazón, y siempre fueron incondicionales con su amistad y su apoyo. Gracias a ellos, que me enseñaron el verdadero valor de la amistad.

A mi compañera de tesis Vanessa, que más que una compañera y colega es mi amiga y estuvo siempre apoyándome en todo. Ella es una persona incondicional y una excelente profesional. A ella por aguantarme durante estos cinco años, ya que durante toda la carrera estuvimos juntas como compañeras y amigas.

Angélica Yiseth Ardila Sánchez

A **Dios**, principalmente por darme salud, sabiduría y paciencia porque sin él nada de esto sería posible pues es el faro que alumbra mi camino y que me ha enseñado que lo que he vivido fue por alguna razón y aunque me ha tocado aceptarlo como una nueva lección algo me ha enseñado, pues he aprendido a conocerme, a curarme las heridas y a levantarme, me enseñó que de lo bueno y de lo malo siempre hay algo por descubrir, que hay un lado positivo en todo aquello negativo y me enseñó lo más importante a **ser feliz y nunca dejar de sonreír**

A mi maravillosa madre **Gloria Vasquez**, por apoyarme y llenarme de carácter y valentía, por enseñarme que nada nos detiene y que siempre debemos estar dispuestos a afrontar los retos que trae consigo la vida, mi orgullo para ti.

A mi padre **Carlos Pacheco**, por apoyarme en este proceso, por enseñarme a ser audaz y perseverante, por demostrarme su amor y cariño, siempre serás la luz de mis ojos Sin uds mi sueño nunca se hubiera convertido en una realidad, los adoro, admiro y respeto

A mis hermanos **Juanca** y **Harry** y a mis sobrinos **Andrey** y **Dylan** por ser los hombres de mi vida, mi motor y alegrarme los días, este triunfo también es de uds y por uds, los quiero mucho.

A **Pao Bayona**, por ser más que mi amiga, mi consejera, mi polo a tierra, mi 9%, eres la hermana de corazón que la vida me regalo, gracias doy a Dios por haberte puesto en mi camino en el momento justo, gracias por tenerme tanta paciencia y por bríndame tu apoyo incondicional, gracias por todos los buenos y malos momentos que nos han enseñado a crecer como personas, vamos a comernos el mundo cumpliendo todos nuestros sueños, siempre juntas de corazón.

A todos los amigos que me dejo la universidad y la vida, por los consejos, el apoyo, los momentos y las experiencias compartidas que sin duda solo guardo lo mejor de cada uno.

A **Angie**, mi compañera de proyecto, de universidad, de vida, de consejos, de experiencias, de risas, de sueños compartidos, y claro también de buenos y malos momentos gracias por estar a mi lado siempre, por entender, comprender y sobre todo soportarme, sin tu apoyo y dedicación no hubiera sido posible este proyecto, que la vida nos mantenga unidas y sigamos compartiendo experiencias.

Y a todos aquellos que en estas cortas palabras se me escapan, solamente me queda decirles gracias por mostrarme que el mundo se puede conquistar y solo depende de las ganas que tengas de hacerlo.

Vanessa Pacheco

Agradecimientos

A **Dios**, por darnos la sabiduría y el entendimiento necesario para permitirnos culminar exitosamente esta etapa de nuestras vidas y con ello cumplir el sueño de ser Ingenieras Químicas.

Al profesor **Carlos Jesús Muvdi Nova**, por su dirección y acompañamiento durante todo el proyecto. Quien con sus conocimientos, experiencia y dedicación nos ayudó a cumplir satisfactoriamente los objetivos trazados, formándonos como excelentes profesionales.

A nuestro codirector **Rolando Andrés Acosta Fernández**, que gracias a sus consejos, confianza y constancia, ayudó en nuestra formación integral, permitiéndonos cumplir exitosamente las metas propuestas. Gracias por su entrega, orientación y acompañamiento durante todo el desarrollo de este proyecto.

Al Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología (**CICTA**), que cuenta con un gran talento humano y que por su disposición, apoyo y colaboración permitió llevar a cabo este proyecto.

Al grupo de investigación **INTERFASE**, por permitirnos ser parte de su grupo de trabajo, ayudándonos a fortalecer nuestras habilidades como investigadores con su constante colaboración y préstamo de instalaciones.

Contenido

	Pág.
Introducción	16
1. Marco Teórico y Estado del Arte.....	17
2. Objetivos.	23
2.1 Objetivo general.....	23
2.2 Objetivos específicos.	24
3. Metodología del proyecto	25
3.1 Etapa 1: Estudio del efecto de la temperatura y presión transmembrana sobre la distribución de peso molecular.	26
3.2 Etapa 2: Evaluación de la influencia del peso molecular de corte sobre el desempeño del proceso de ultrafiltración.	26
3.3 Etapa 3: Estudio experimental de los modos de operación concentración (batch) y diafiltración.	27
3.4 Métodos y técnicas de análisis.....	28
3.4.1 Obtención y caracterización del hidrolizado de pergamino de café	28
3.4.2 Módulo de membrana	28
3.4.3 Cálculo de la permeabilidad de las membranas.	29
3.4.4 Caracterización de los productos	29
4. Análisis y Discusión de Resultados	30

4.1 Efecto de la presión transmembrana y temperatura en la ultrafiltración de xilo-oligosacáridos con la membrana de 3kDa.....	30
4.2 Efecto del peso molecular de corte en la separación de XOs mediante ultrafiltración.....	34
4.3 Evaluación del proceso de ultrafiltración de xilo-oligosacáridos mediante concentración (modo batch) y diafiltración.....	39
5. Conclusiones	44
6. Trabajos futuros	46
Referencias Bibliográficas	47
Apéndices.....	52

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1. Diagrama metodológico del proyecto.	25
Figura 2. Montaje experimental del módulo membranario.	29
Figura 3. Permeabilidad promedio al hidrolizado con la membrana de 3kDa (GK-polietilenglicol) a PTM de 3, 5 y 8bar a 30°C (a) y 40°C (b). Desviación media.	30
Figura 4. Permeabilidad al hidrolizado en función de la PTM a 30°C (●) y 40°C (●) con la membrana de 3kDa (GK-polietilenglicol). Desviación media.	31
Figura 5. Cromatogramas GPC. Efecto de la presión sobre la distribución de peso molecular de los permeados (a y b) y los retenidos (c y d) con la membrana de 3kDa (GK-polietilenglicol) a 30°C (a y c) y 40°C (b y d) a PTM de 3bar (—), 5bar (—) y 8bar (—), donde X2 y X20 representan oligosacáridos de 0,28 y 2,8kDa, respectivamente.....	33
Figura 6. Permeabilidad promedio al agua con las membranas limpias para los diferentes MWCO: 1, 3, 5 y 10kDa a 30°C y 3bar. Desviación media.	34
Figura 7. Permeabilidad promedio al hidrolizado con respecto al tiempo para los diferentes MWCO: 1kDa (●), 3kDa (●), 5kDa (●) y 10kDa (●). Desviación media.....	35
Figura 8. Cromatogramas GPC. Influencia del MWCO sobre la distribución de peso molecular del permeado (—) y retenido (—) del hidrolizado, donde X2 y X20 representan oligosacáridos de 0,28 y 2,8kDa, respectivamente.	37

- Figura 9. Cromatogramas GPC. Efecto del proceso de concentración sobre la distribución de peso molecular del permeado, PI (—), PM (—), PF (—) y Retenido concentrado (—) obtenido con las membranas de 5 y 10kDa (polietersulfona) a PTM de 3bar y 30°C respecto al Hidrolizado inicial (—), donde X2 y X20 representan oligosacáridos de 0,28 y 2,8kDa, respectivamente..... 39
- Figura 10. Cromatogramas GPC. Efecto del proceso de diafiltración sobre la distribución de peso molecular de PI (—), PM (—), PF (—), Retenido concentrado (—) y Retenido final de diafiltración (—) a 3bar y 30°C.con las membranas de 5 y 10kDa (polietersulfona) con respecto al hidrolizado inicial (—), donde X2 y X20 representan oligosacáridos de 0,28 y 2,8kDa, respectivamente..... 41
- Figura 11. Permeabilidad promedio al hidrolizado para el proceso de concentración (a) y diafiltración (b) con los MWCO PT-5kDa (●) y PU-10kDa (●) a 3bar y 30°C. Desviación media..... 42
- Figura 12. Concentración de los compuestos de los retenidos de la etapa de concentración y diafiltración con la membrana de 5kDa (polietersulfona) a 3bar y 30°C. Desviación media. 43

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1. Estudios realizados para la producción de oligosacáridos utilizando ultrafiltración con membranas como método de separación.	20
Tabla 2. Porcentajes de retención de MS y OS para distintos MWCO a 25°C.	22
Tabla 3. Contenido de OS y MS en las etapas de diafiltración y concentración, expresados en g/100gr de solutos no volátiles a 25°C y 4.1 bar.	23
Tabla 4. Diseño de experimentos multinivel para pruebas con la membrana de 3kDa.	26

Lista de Apéndices

	Pág.
Apéndice A. Proceso de ultrafiltración detallado.	52
Apéndice B. Calibración GPC.	53
Apéndice C. Calibración HPLC.....	54

Lista de Siglas

XOs: Xilo-oligosacáridos

OS: Oligosacáridos

HMF: Hidroximetilfurfural

MWCO: Peso molecular de corte

GP: Grado de polimerización

OND: Oligosacáridos no digeribles

MS: Monosacáridos

PTM: Presión transmembrana

GPC: cromatografía por permeación en gel

HPLC: Cromatografía líquida de alta resolución

Resumen

TÍTULO: ANÁLISIS DE LAS VARIABLES DEL PROCESO DE ULTRAFILTRACIÓN EN LA SEPARACIÓN DE XILO-OLIGOSACÁRIDOS (XOs) PRESENTES EN HIDROLIZADOS DE PERGAMINO DE CAFÉ*

AUTORES: Angélica Yiseth Ardila Sánchez - Yulieth Vanessa Pacheco Vasquez**

PALABRAS CLAVE: Ultrafiltración, autohidrólisis, xilo-oligosacáridos.

DESCRIPCIÓN:

Los xilo-oligosacáridos (XOs) se pueden obtener del pergamino de café y el proceso más adecuado para su extracción es la autohidrólisis, sin embargo genera hidrolizados compuestos por oligosacáridos, monosacáridos y productos de degradación. Como estrategia para separar XOs, en este trabajo se propuso una ultrafiltración usando membranas poliméricas, evaluando el efecto del umbral de corte (MWCO), la presión transmembrana (PTM) y la temperatura centrándose en la influencia del proceso sobre la distribución de peso molecular de los OS obtenidos. Se utilizaron membranas poliméricas planas de la marca Osmonics, con MWCO de 1, 3, 5 y 10kDa, con PTM de 3, 5 y 8bar a 30 y 40°C. También se analizó el efecto de los procesos de concentración y diafiltración consecutivos hasta un factor de concentración volumétrico de 3.

Se encontró que la distribución de peso no fue afectada considerablemente a 30°C, además, la temperatura tuvo baja influencia sobre la permeabilidad de la membrana con un flux promedio de $2,38\text{Lh}^{-1}\text{m}^{-2}\text{bar}^{-1}$. La permeabilidad y la retención de monosacáridos (MS) aumentaron con la presión, concluyendo que a 3bar se obtuvo mayor remoción de compuestos de bajo peso molecular. Con respecto a la influencia del umbral de corte, la membrana de 5kDa generó una mejor remoción de MS, siendo la más selectiva y la membrana de 10kDa obtuvo la mayor permeabilidad (3 veces mayor). Por otro lado, los resultados con el proceso de concentración permitieron aumentar la cantidad de XOs con los MWCO de 5 y 10kDa, y la etapa de diafiltración ayudó con la eliminación de compuestos indeseados. Finalmente, los resultados obtenidos mostraron la capacidad de la ultrafiltración con membranas para separar los XOs de compuestos de bajo peso molecular, mejorando las características de los hidrolizados para posibles aplicaciones en la industria como ingredientes activos para alimentos funcionales.

* Trabajo de grado

** Facultad de Ingenierías Físico-Químicas. Escuela de Ingeniería Química. Director: Carlos Jesús Muvdi Nova. Ingeniero Químico, M.Sc., Ph.D.

Abstract

TITLE: ANALYSIS OF THE VARIABLES OF THE ULTRAFILTRATION PROCESS IN THE SEPARATION OF XILO-OLIGOSACCHARIDES (XOs) PRESENT IN HYDROLYZED OF COFFEE HUSKS*.

AUTHORS: Angélica Yiseth Ardila Sánchez – Yulieth Vanessa Pacheco Vásquez**

KEYWORDS: Autohydrolysis, ultrafiltration and xylo-oligosaccharides (xos).

DESCRIPTION:

The xylo-oligosaccharides (XOs) can be obtained from coffee husks and the most suitable process for its extraction is autohydrolysis, however, it generates hydrolysates composed of oligosaccharides, monosaccharides and degradation products. As a strategy to separate xos, in this work an ultrafiltration was proposed using polymer membranes evaluating the effect of the cut-off threshold (MWCO), the transmembrane pressure (PTM) and the temperature focusing on the influence of the process on the molecular weight distribution of the OS obtained. Flat polymeric membranes of the Osmonics brand were used, with MWCO of 1, 3, 5 and 10kDa, with PTM of 3.5 and 8bar at 30 and 40 C. The effect of the consecutive concentration and diafiltration processes was also analyzed until a volumetric concentration factor of 3.

It was found that the weight distribution was not affected significantly at 30°C, in addition, the temperature had a low influence on the permeability of the membrane with an average flux of $2,38\text{Lh}^{-1}\text{m}^{-2}\text{bar}^{-1}$. The retention of monosaccharides (MS) increased with pressure, concluding that a 3 bar greater removal of low molecular weight compounds was obtained. Regarding the influence of the cut-off threshold, the 5kDa membrane generated a better MS removal, being the most selective and the 10kDa membrane obtained the highest permeability (3 times higher). On the other hand, the results with the concentration process allowed to increase the quantity of XOs with the MWCO of 5 and 10kDa, and the diafiltration stage helped with the elimination of undesired compounds. Finally, the results obtained showed the capacity of the ultrafiltration with membranes to separate the XOs from low molecular weight compounds, improving the characteristics of the hydrolysates for possible applications in the industry as active ingredients for functional foods.

* Undergraduate Project

** Physical and Chemical Engineering's Faculty. School of Chemical Engineering. Advisor: Carlos Jesús Muvdi Nova, Chemical Engineer, M.Sc., Ph.D.

Introducción

Los residuos lignocelulósicos provenientes de cadenas agroindustriales están compuestos por celulosa, hemicelulosa y lignina (Ochoa *et al.*, 2012), de los cuales es posible obtener hidrolizados constituidos principalmente por xilanos. Tal es el caso de los residuos del proceso de trilla del café, los cuales se han utilizado para extraer xilanos mediante autohidrólisis dentro del grupo de investigación INTERFASE-UIS. El xilano es la principal fuente para la obtención de xilo-oligosacáridos (XOs) y su composición depende del material lignocelulósico usado. Los XOs poseen importantes propiedades fisiológicas que les proporcionan funciones prebióticas mediante la estimulación selectiva del crecimiento bacteriano en el colon, originando un interés creciente en la industria alimentaria (Saval, 2012). A nivel comercial, los XOs tienen cadenas entre 2 y 20 monosacáridos (MS) de xilosa y su precio fluctúa entre 22-50USD/kg dependiendo del nivel de pureza (Otieno & Ahring, 2012).

La purificación de XOs provenientes de procesos hidrotérmicos (autohidrólisis) ha presentado inconvenientes, dado que los hidrolizados están compuestos por oligosacáridos (OS) de cadenas largas, monosacáridos (MS) y compuestos no deseados (furfural, hidroximetilfurfural, entre otros). Dado que su principal aplicación es la industria alimentaria, es necesario implementar procesos de separación que generen XOs con mejores características (composición) que garanticen un valor agregado. Existen diferentes métodos de separación de XOs, sin embargo, la ultrafiltración con membranas presenta ventajas respecto a otras alternativas, como una separación selectiva y uniforme, menor consumo energético, alto rendimiento y calidad de producción, sin disminuir las

características fundamentales del producto (Barragán, 2008; González *et al.*, 2010) permitiendo la recuperación de OS de gran peso molecular (hidrólisis enzimática) y la separación de productos indeseados (Nabarlatz, 2007; Pinelo *et al.*, 2009), lo que hace a este proceso el más adecuado para separar XO_s.

En consecuencia, este estudio busca la evaluación del proceso de ultrafiltración usando membranas poliméricas de diferente umbral de corte para el procesamiento de hidrolizados del pergamino de café, centrándose en la influencia del proceso sobre la distribución de peso molecular de los OS obtenidos.

1. Marco Teórico y Estado del Arte

Los oligosacáridos (OS) son carbohidratos unidos por enlaces glucosídicos formando cadenas lineales o ramificadas, y se pueden encontrar con diferentes concentraciones en la leche, miel, entre otros (Wang, 2009). Según sus propiedades fisiológicas se dividen en digeribles y no digeribles (OND); el concepto de no digeribles se le atribuye a los ingredientes alimentarios capaces de alcanzar el colon sin ser hidrolizados ni absorbidos en la parte alta del tracto gastrointestinal (Roberfroid & Slavin, 2000). Por otra parte, las sustituciones, el tipo de monosacáridos (MS), el grado de polimerización (GP), entre otros, definen sus propiedades fisicoquímicas (Pinelo *et al.*, 2009). Los OND como los xilo-oligosacáridos (XO_s) son OS formados por unidades de xilosa con gran variedad de sustituyentes que forman cadenas laterales de grupos acetilo, arabinosa, entre otros (Caparrós *et al.*, 2007). Los XO_s poseen propiedades fisiológicas que le otorgan un comportamiento dietético y prebiótico, ya que son una fuente de

carbono para las bacterias promoviendo su crecimiento en el colon, lo que genera efectos beneficiosos en la salud como la modificación de la flora bacteriana, reducción de riesgo de padecer cáncer, entre otros. Además, para que puedan estar disponibles para el metabolismo bacteriano, deben ser químicamente estables a tratamientos con calor y pH bajo (Wang, 2009). Dado que no se absorben en el intestino, no deberían tener valor calórico, sin embargo, contribuyen energéticamente con 1,5kcalg⁻¹ debido a su fermentación en el colon (Voragen, 1998). Estas propiedades permiten que cumplan los requisitos para utilizarlos en la industria como ingredientes activos de los alimentos funcionales (Ariza et al., 2005).

Los XO_s se producen a partir de materiales lignocelulósicos (biomasa vegetal) ricos en xilano, los cuales están formados por celulosa, hemicelulosa y lignina. La extracción de la hemicelulosa ha tomado gran importancia en los últimos años porque está compuesta de MS (xilosa, arabinosa, glucosa, entre otros) y OS (Vázquez *et al.*, 2001), los cuales tienen diferentes funciones que dependen de su GP. Estudios han demostrado que la autohidrólisis es el proceso más apropiado y utilizado para la extracción de hemicelulosa, ya que solubiliza hasta el 98% y degrada el material lignocelulósico mediante un solvente (agua) a temperaturas altas. Este proceso despolimeriza hidrolíticamente algunos enlaces del xilano, formando OS de altos pesos moleculares (>0,94kDa) y una serie de reacciones que producen OS de cadena corta, además de MS (<0,15kDa) y productos de degradación (furfural e hidroximetilfurfural) (Caparrós, 2009; Parajó *et al.*, 2004).

El pergamino de café es una biomasa lignocelulósica definida como una membrana frágil cartilaginosa que se separa en el proceso de la trilla (Carvajal *et al.*, 2012). Según reporte de la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia en el 2016 se cultivaron 940919ha de café, de las cuales 213589Ton corresponden a pergamino de café. Sin embargo, solo se utiliza una pequeña fracción de éste como combustible y el resto se pudre en pilas o es arrojado a corrientes de agua

generando problemas ambientales (Cardona & Suarez, 2012). En busca de aprovechar esta biomasa, se han realizados estudios que aumentan su importancia, ya que puede ser utilizada para la producción de varios compuestos.

El grupo INTERFASE-UIS ha realizado estudios de caracterización de diferentes biomásas agroindustriales colombianas, reportando que el pergamino de café, el bagazo de caña, y el raquis de palma tienen mayor contenido de xilosa con 29,29; 24,45 y 17,78% *p/p*, respectivamente, en comparación con las demás biomásas analizadas (Sanabria, 2016). Posteriormente, se realizó un proceso de autohidrólisis a dichas biomásas a diferentes condiciones de operación, encontrando que del pergamino de café es posible extraer una mayor cantidad de XO_s (13 gL⁻¹), convirtiendo a esta materia prima en una potencial fuente para la producción de XO_s (Sandoval & Viviescas, 2017). Debido a la composición de estos hidrolizados es necesario buscar métodos de separación que permitan obtener XO_s con funciones prebióticas (GP entre 2-20). La ultrafiltración es un proceso de separación basado en el tamaño molecular, que utiliza una membrana para separar y concentrar sustancias sin sufrir cambios de fase, mediante una fuerza impulsora (Suarez, 2016); entre las cuales se encuentra un gradiente de presión (presión transmembrana - PTM). Las principales variables a tener en cuenta son la temperatura, PTM y el MWCO (Ibañez, 2007; Palacio, 1998). La principal ventaja que posee ésta técnica es la aplicación de bajas presiones (1-10bar), dependiendo de la resistencia de la membrana y del peso molecular de corte (MWCO). Además, ofrece ventajas al sector industrial como aumento del rendimiento, un elevado grado de selectividad sin disminuir las características fundamentales del producto, entre otros (Barragán, 2008).

La membrana se define como una barrera permeoselectiva que restringe el paso de determinados compuestos de un fluido a través de ella (Lopetegui *et al.*, 2008; Suarez, 2016), sus

propiedades varían dependiendo del material membranario (celulosa, polímeros y cerámica) y su estructura (porosas, no porosas, intercambiadoras de iones y de transporte). Las membranas poliméricas constituyen el campo más amplio y desarrollado debido a su bajo costo, además, pueden ser reutilizables o no (campo de aplicación), resisten temperaturas hasta 80°C y pH entre 2-12, haciéndolas útiles en la filtración de líquidos, ya que su solubilidad aumenta con la temperatura, permitiendo trabajar bajas viscosidades y mayores concentraciones (Chacón, 2005; Palacio, 1998). Un indicador importante es la permeabilidad, la cual se ve afectada por la PTM y la temperatura, ocasionando cambios en la selectividad y la permeabilidad (Neira, 2010). La desventaja que posee la filtración con membrana es la polarización de la concentración y el ensuciamiento, las cuales son causadas por el aumento de la cantidad de solutos en la superficie de la membrana, conduciendo a una disminución de la permeabilidad; su impacto se ve influenciado por el tipo de solución, la geometría y material de la membrana, entre otros (Lovato, 2015).

Tabla 1.

Estudios realizados para la producción de oligosacáridos utilizando ultrafiltración con membranas como método de separación.

BIOMASA	TIPO DE MEMBRANA	MWCO [kDa]	PTM [bar]	T [°C]
Pinus Pinaster (González <i>et al.</i> , 2013)	Celulosa	1 - 10	4,1	25
Eucalyptus Globulus (Gullón <i>et al.</i> , 2008)	Cerámicas	1 - 50	2-8	25
Cáscara de Almendra (Nabarlatz, <i>et al.</i> , 2007)	Poliméricas	1 - 8	2,6-9	25 ± 1

Estos estudios tienen en común que operan PTM entre 2-9bar y 25°C. Nabarlatz *et al.* (2007), observaron durante la filtración de hidrolizados de XO_s, que la selectividad de las membranas disminuye linealmente con la PTM. Igualmente, reportaron un aumento de la permeabilidad al hidrolizado de forma casi lineal con la PTM, utilizando membranas de corte MWCO de 3,5 y

8kDa; aumento que se detiene a partir de ciertos valores de PTM, debido a una resistencia al flujo causada por la capa de polarización, que aumentaba la retención de compuestos, y con ello, la resistencia al flujo. Asimismo, González *et al.* (2013) reportaron permeabilidad constante para todos los MWCO, excepto en el proceso de concentración realizado con la membrana de 1kDa, debido a un incremento en la viscosidad. Nabarlatz *et al.* (2007), analizaron la recuperación de la permeabilidad de las membranas al agua luego de su uso, concluyendo que el ensuciamiento irreversible era bajo, ya que la permeabilidad se recuperó en un 93% en todos los casos, manteniendo la eficiencia de la membrana durante el experimento. González *et al.* (2013), recuperaron completamente la permeabilidad al agua, luego de limpiar con la solución recomendada por el proveedor (etanol al 10% v/v). Por otra parte, Gullón *et al.* (2008), encontraron que la membrana de 15kDa no es apropiada para la separación de XOs, ya que presenta dificultad para la recuperación de la permeabilidad y permite el paso de compuestos de GP alto, los cuales se pueden degradar con procesos como hidrólisis enzimática, aprovechándolos para la obtención de XOs con funciones prebióticas, generando un valor comercial agregado.

De los estudios anteriores se observa que el efecto de la temperatura no fue evaluado en la ultrafiltración de OS, ya que un aumento de esta podría modificar la selectividad y aumentar la sensibilidad de los azúcares, sin embargo, aumenta la productividad (Neira, 2010), haciendo conveniente observar el comportamiento de la temperatura.

La retención (R_i) se define como el porcentaje de compuesto i que no pasa a través de la membrana, los datos mostrados en la Tabla 2 y Tabla 3, fueron calculados con la ecuación (1), donde $C_{p,i}$ es la concentración del compuesto i en el permeado y $C_{r,i}$ es la concentración del compuesto i en el retenido (Riquelme, 2015).

$$R_i(\%) = \left(1 - \frac{C_{p,i}}{C_{r,i}}\right) * 100 \quad (1)$$

Se puede observar (Tabla 2) que las membrana de 5 y 15kDa, poseen retenciones de MS más altas que las de 1kDa, confirmando un mecanismo de incrustación dependiente del MWCO, el cual se puede justificar considerando que las moléculas grandes podrían bloquear los poros en las membranas de alto MWCO, actuando como una segunda membrana y dificultando el transporte de las moléculas pequeñas. Además la membrana de 1kDa logra la mayor retención de XO_s (85%), seguida de la membrana de 5kDa con 75-80%, haciendo a estos dos MWCO los más apropiados para la separación de MS y retención de XO_s. Asimismo, Nabarlatz *et al.*, (2007) reportaron que la membrana de 1kDa también es apropiada para la separación de compuestos de bajos pesos moleculares, los cuales representan casi la mitad de las impurezas de los XO_s, permitiendo su purificación.

Tabla 2.

Porcentajes de retención de MS y OS para distintos MWCO a 25°C.

MWCO [kDa]	PTM [bar]	Monosacáridos (MS)			Oligosacáridos (OS)	
		Glucosa	Xilosa	Arabinosa	XO _s	GO _s
1	7	6,6%	17,5%	12%	85%	95%
5	8	40%	19%	10%	75 – 80%	75 – 80%
15	8	35%	24%	20%	66%	91%

Nota: Gluco-oligosacáridos (GO_s). Adaptado de Gullón *et al.*, (2008).

La ultrafiltración se puede realizar de dos modos, concentración y diafiltración, en el primer proceso el permeado no es recirculado aumentando la concentración de los componentes en el retenido y el segundo es un caso particular de filtración donde el retenido es diluido con agua hasta determinado volumen y recirculado de modo tal que reduzca la concentración de los componentes solubles del permeado (Chacón, 2005).

Según los estudios realizados por González *et al.* (2013), mostrados en la Tabla 3, realizar diafiltración y concentración consecutivos permitió mayor separación de OS. Asimismo, los

porcentajes de OS en los retenidos son mayores en los procesos de diafiltración que en concentración, permitiendo remover una mayor cantidad de MS. Además de la influencia del modo de operación, la membrana de 3kDa retuvo una mayor cantidad de OS, haciendo a este MWCO adecuado para remover MS.

Tabla 3.

Contenido de OS y MS en las etapas de diafiltración y concentración, expresados en g/100gr de solutos no volátiles a 25°C y 4.1 bar.

ETAPA	MWCO [KDa]	RETENIDO		PERMEADO	
		OS	MS	OS	MS
1 (Diafiltración)	10	90,20%	9,80%	54%	25,90%
2 (Concentración)	5	76,20%	16,70%	55,80%	38,10%
3 (Diafiltración)	5	80,5%	6%	61,20%	24,90%
4 (Concentración)	3	77,40%	14,60%	56,90%	43,10%
5 (Diafiltración)	3	93,90%	6,10%	63,80%	36,20%
6 (Concentración)	1	73,90%	26,10%	53,7%	46,3%
7 (Diafiltración)	1	86,4%	13,6%	58,3%	41,7%

Nota: Monosacáridos (MS) y oligosacáridos (OS). Adaptado de González *et al.*, (2013).

2. Objetivos.

2.1 Objetivo general.

Analizar la influencia del tamaño de poro, la presión transmembrana (PTM) y la temperatura en el proceso de ultrafiltración para la separación de oligosacáridos presentes en hidrolizados de pergamino de café.

2.2 Objetivos específicos.

- Estudiar el efecto de la temperatura y presión transmembrana sobre la distribución de peso molecular y la permeabilidad durante la ultrafiltración de hidrolizados de pergamino de café.
- Evaluar la influencia del umbral de corte de las membranas sobre el desempeño del proceso de ultrafiltración para la separación de xilo-oligosacáridos.
- Analizar los modos de operación de concentración (batch) y diafiltración en la separación de xilo-oligosacáridos por ultrafiltración.

3. Metodología del proyecto

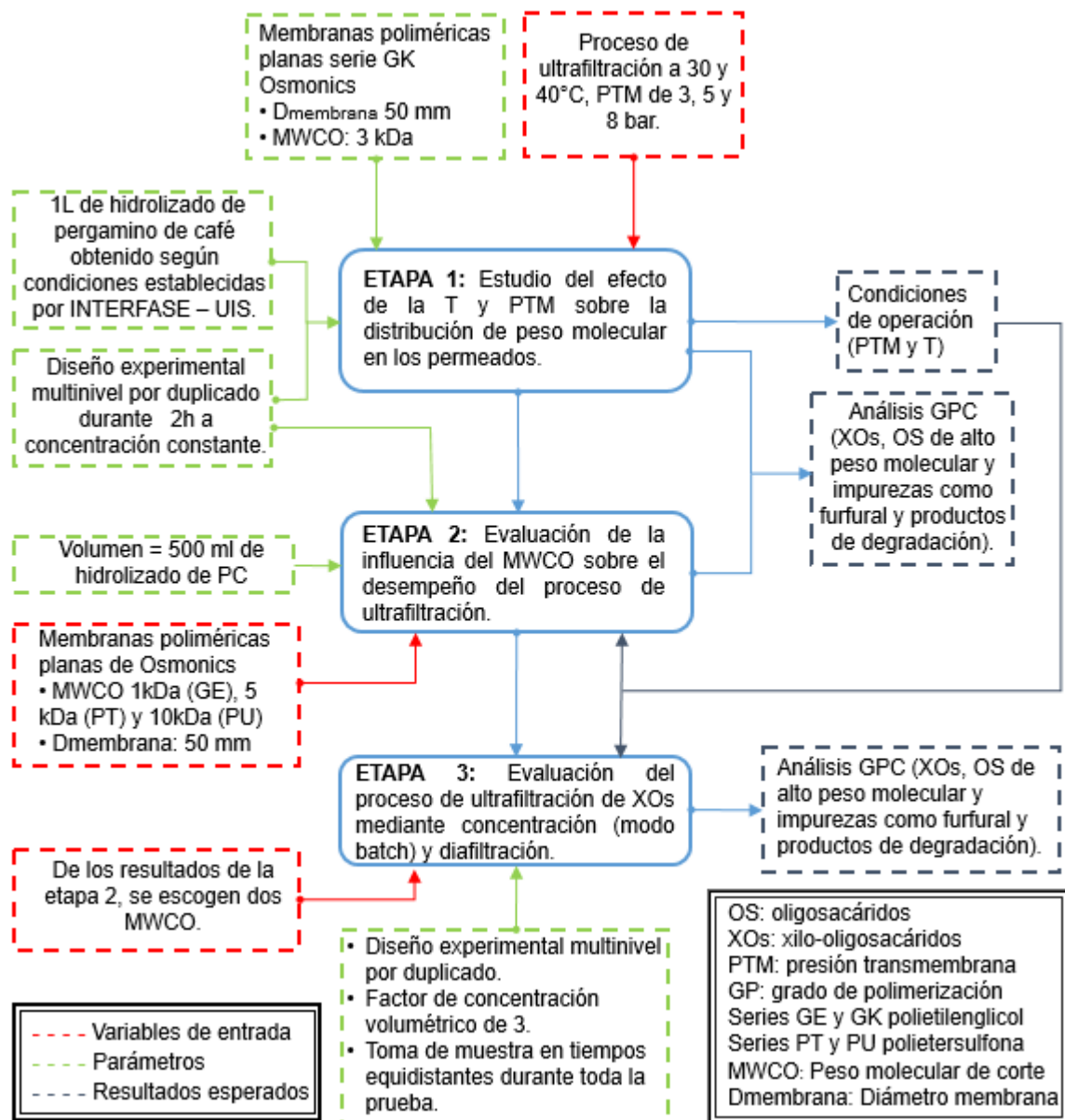


Figura 1. Diagrama metodológico del proyecto.

3.1 Etapa 1: Estudio del efecto de la temperatura y presión transmembrana sobre la distribución de peso molecular.

En esta etapa se realizó ultrafiltración a concentración constante, con el fin de evaluar e identificar la presión transmembrana 3, 5 y 8 bar (PTM) (Gullón *et al.*, 2008) y la temperatura (30 y 40°C) que favorezcan la separación de xilo-oligosacáridos (XOs). Para ello se trabajó con una membrana GK de 3kDa (Osmonics®); peso molecular de corte (MWCO) apropiado para remover monosacáridos (MS) (González *et al.*, 2013). Las pruebas se realizaron por duplicado y según el diseño mostrado en la Tabla 4, con 1L de hidrolizado. Se realizó seguimiento a los flujos en tiempos equidistantes (10min) y se tomaron muestras de permeado en la mitad y al final de la prueba para analizar por GPC.

Tabla 4.

Diseño de experimentos multinivel para pruebas con la membrana de 3kDa.

Experimento	PTM [bar]	Temperatura [°C]
1	3	30
2	5	30
3	8	30
4	3	40
5	5	40
6	8	40

3.2 Etapa 2: Evaluación de la influencia del peso molecular de corte sobre el desempeño del proceso de ultrafiltración.

En esta etapa se realizó la ultrafiltración, con el objetivo de analizar la productividad y selectividad de los diferentes MWCO (1, 3, 5 y 10kDa) por 3 razones: para separar los oligosacáridos (OS)

menores de 0,28kDa como monómeros, furfural e hidroximetilfurfural, entre otros; para separar los OS con cadenas entre 2 y 20 monómeros (0,28 y 2,8kDa) los cuales poseen funciones prebióticas que en su mayoría son XOs; y finalmente, para retirar los OS de cadenas largas los cuales se pueden usar para otros tratamientos (degradación enzimática) (Caparrós *et al.*, 2007). El proceso se realizó con 500ml de hidrolizado a las condiciones (PTM y T) seleccionadas en la etapa anterior, durante 2h con toma de muestra al final del proceso (7ml) con el fin de caracterizar por GPC y seguimiento de flujos en tiempos equidistantes (15min).

3.3 Etapa 3: Estudio experimental de los modos de operación concentración (batch) y diafiltración.

En esta etapa se realizó el proceso de concentración, inicio con 300ml de hidrolizado hasta lograr un factor de concentración volumétrico (FCV) de 3. Seguidamente, se realizó la diafiltración con un factor de dilución volumétrico de 3 con agua destilada, luego se procedió a concentrar hasta el FCV (100ml) con las condiciones de operación establecidas en la Etapa 1 y los MWCO seleccionados en la Etapa 2, con el fin de analizar el modo de operación (concentración y diafiltración) que favorezcan la separación de XOs. En esta etapa se utilizó un módulo membranario de 119mm de diámetro. Se tomaron 3 muestras, al inicio, durante y al final de la prueba, dependiendo de la productividad de cada membrana, con el fin de caracterizar por GPC. El protocolo detallado del proceso de ultrafiltración se puede observar en el Anexo A.

Además, antes y después de cada experimento se realizó una limpieza a la tubería para eliminar las impurezas retenidas, ocasionadas por la materia orgánica presente en el hidrolizado. Inicialmente se circuló 300ml de agua para limpiar toda la tubería y accesorios del módulo,

posteriormente se pasaron 500mL NaOH al 2,5% p/p (Sterlitech, 2017) y pH de 13, a recirculación total durante media hora, finalmente se circuló agua hasta lograr pH neutro (Cuartas, 2005).

3.4 Métodos y técnicas de análisis.

3.4.1 Obtención y caracterización del hidrolizado de pergamino de café. Se realizó la autohidrólisis del pergamino de café utilizando un reactor Parr de la serie 4848 de acero inoxidable con un volumen de 3,7L. El proceso se llevó a cabo a 180°C con una relación sólido-solvente de 1:8 g de pergamino de café/g de agua, dichas condiciones de operación fueron estudiadas y establecidas previamente por el grupo de investigación INTERFASE- UIS (Sandoval & Viviescas, 2017). Luego de llevar a cabo el proceso de autohidrólisis se realizó la caracterización del hidrolizado inicial por GPC y HPLC como se describe en la sección 4.4.4, con el objetivo de conocer la distribución de peso molecular y composición (13gL⁻¹ de XO_s), respectivamente.

3.4.2 Módulo de membrana. Se utilizaron membranas poliméricas planas marca Osmonics de la empresa Lenntech, las cuales se adecuaron según el modulo requerido con diámetros de 55 y 101mm. Las membranas de polietilenglicol (1 y 3kDa) resisten hasta 70°C y presiones de 40 y 27bar, respectivamente; y las de polietersulfona (5 y 10kDa) soportan hasta 50°C y 10bar. Todos los MWCO permiten trabajar soluciones con pH entre 1 y 11 a 25°C. El proceso de ultrafiltración se llevó a cabo en el montaje experimental (Figura 2), el cual consiste inicialmente en un tanque de alimentación (1) de 2,3L, una bomba dosificadora (2) con presión máxima de 18bar y diámetro de salida de 3/8", un módulo membranario (3) en acero inoxidable con diámetro de 75 y 119mm, un sistema de control de temperatura y un "back pressure" (4) para controlar la presión del sistema.

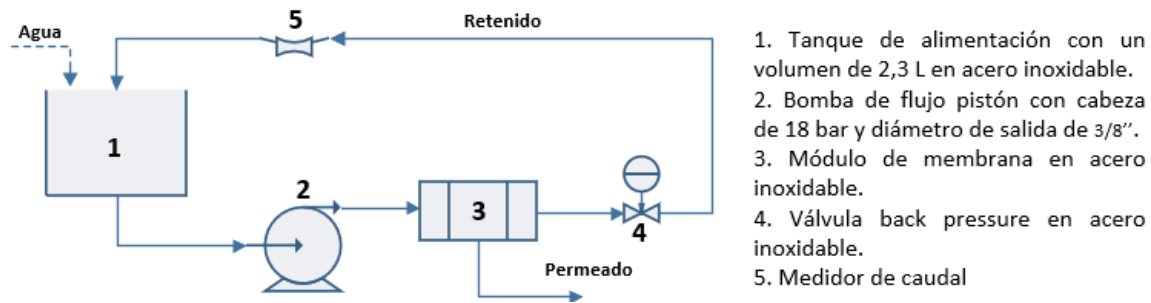


Figura 2. Montaje experimental del módulo membranario.

3.4.3 Cálculo de la permeabilidad de las membranas. La permeabilidad tanto al agua como al hidrolizado se calculó para todos los MWCO (1, 3, 5 y 10kDa), a 3bar y 30°C (condiciones establecidas en la Etapa 1). La permeabilidad al agua se realizó circulando agua tipo I durante 20min. Posteriormente se llevó a cabo la ultrafiltración del hidrolizado durante 2h para la Etapa 1 y 2, y para la Etapa 3 dependió de la productividad de las membranas seleccionadas en la Etapa 2, además, del modo de operación.

3.4.4 Caracterización de los productos. Los productos se analizaron por cromatografía de exclusión por tamaño (GPC), determinando la distribución de peso molecular. La cromatografía GPC es una técnica sólido-líquido que separa los OS en función de su tamaño, se llevó a cabo utilizando una columna SRT-SEC100 Sepax Thecnology, con flujo de 0,3mlmin⁻¹ y fase móvil de 10/90 p/p acetonitrilo/agua a 30°C. Las curvas de calibración se realizaron utilizando Dextrano 6, 20 y 40, Xilano, Xilosa, Glucosa y Celobiosa de marca Alfa Aesar y se detallan en el Anexo B. La cuantificación de los azúcares presentes se realizó por medio de análisis HPLC, usando una columna Zorbax carbohydrate con flujo de 0,8mlmin⁻¹, fase móvil de 35/65 p/p agua/acetonitrilo y 30°C. Se usaron moléculas de referencia de Glucosa, Xilosa, Arabinosa, con las cuales se realizó una curva de calibración mostradas en el Anexo C. Con el fin de determinar la concentración de

azúcares como OS se realizó poshidrólisis utilizando H₂SO₄ a 5N, reacción que se llevó a cabo en el autoclave a 120°C durante 45 min (Nabarlatz *et al*, 2007).

4. Análisis y Discusión de Resultados

4.1 Efecto de la presión transmembrana y temperatura en la ultrafiltración de xilo-oligosacáridos con la membrana de 3kDa.

Se realizó la ultrafiltración en modo de recirculación total. La Figura 3 presenta la permeabilidad promedio al hidrolizado con la membrana de 3kDa a 30 y 40°C y PTM (3, 5 y 8bar).

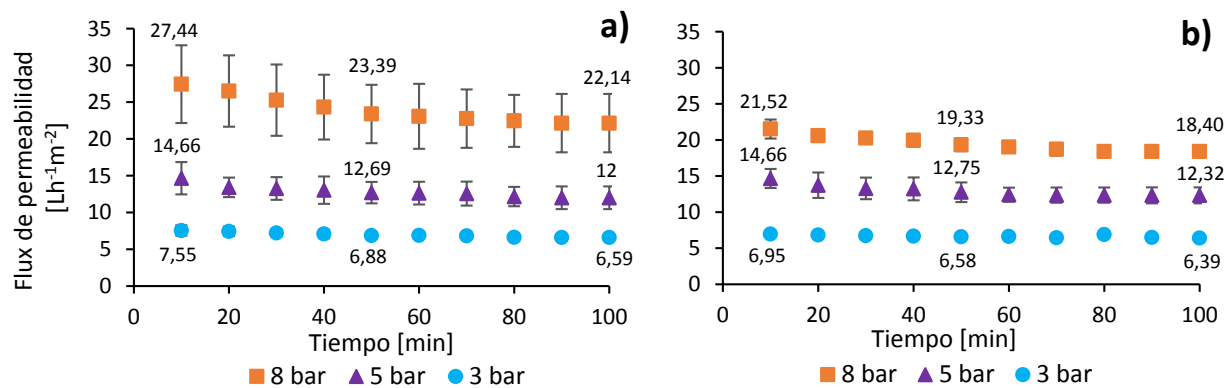


Figura 3. Permeabilidad promedio al hidrolizado con la membrana de 3kDa (GK-polietilenglicol) a PTM de 3, 5 y 8bar a 30°C (a) y 40°C (b). Desviación media.

En esta figura se observa que la permeabilidad al hidrolizado disminuye hasta lograr un valor de estabilización. Además, se observa que la permeabilidad a PTM bajas (3 y 5bar) es similar a las

temperaturas evaluadas, deduciendo que un incremento de temperatura en este rango no afecta de manera notoria la productividad a bajas PTM. Por otra parte, a 8bar la permeabilidad es mayor a 30°C que a 40°C con $22,14 \pm 3,8$ y $18,40 \pm 0,3 \text{Lh}^{-1}\text{m}^{-2}$, respectivamente. Esta caída en el flux se debe a la posible formación de una capa de polarización sobre la membrana, donde a medida que ocurre la ultrafiltración, las especies rechazadas tienden a acumularse (Amarós *et al.*, 2013). Inicialmente, ocurre de manera rápida (flux crítico) y posteriormente de forma gradual, momento en el cual se genera la colmatación de la membrana (Chacón, 2005), la cual no sólo causa la reducción del flujo de permeado sino que también puede generar cambios en la selectividad (Barragán, 2008).

La Figura 4 presenta la permeabilidad al hidrolizado de pergamino de café en función de la PTM, la cual fue calculada a partir del promedio de los flux de estabilización. En esta figura se observa una tendencia lineal del flux con la PTM, confirmando lo reportado por algunos autores, sobre la dependencia del flujo de permeado con la PTM en el rango estudiado (Gullón *et al.*, 2008; Nabarlatz *et al.*, 2007).

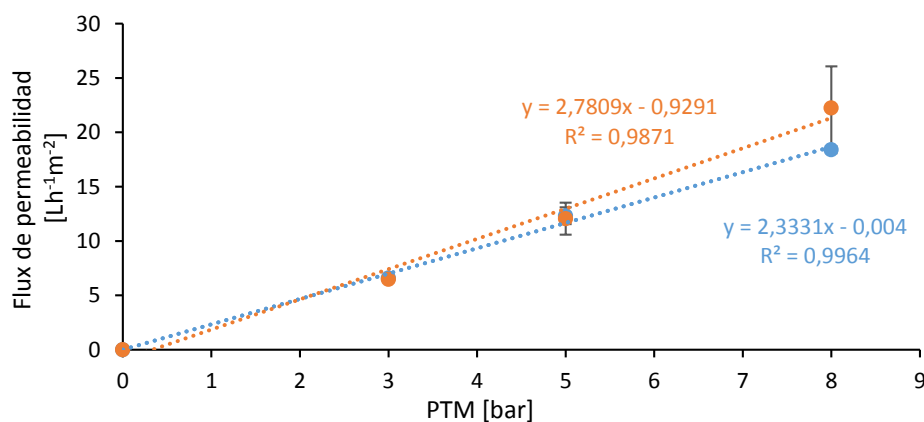


Figura 4. Permeabilidad al hidrolizado en función de la PTM a 30°C (●) y 40°C (●) con la membrana de 3kDa (GK-polietilenglicol). Desviación media.

Los flux de permeabilidad promedio de la membrana al hidrolizado se calcularon como relación independiente de la presión y son de $2,32 \pm 0,1$ y $2,45 \pm 0,3 \text{Lh}^{-1} \text{m}^{-2} \text{bar}^{-1}$ a 40 y 30°C, respectivamente. Aunque, la diferencia no es notoria, el flux es un poco mayor a 30°C y los gastos energéticos menores, por tal razón ésta temperatura es más viable para el proceso. Luego de analizada la permeabilidad de la membrana, se requiere analizar la distribución de peso molecular de las corrientes de proceso.

La Figura 5 presenta los cromatogramas GPC de los permeados y retenidos obtenidos con la membrana de 3kDa a 30 y 40°C y PTM de 3, 5 y 8bar, donde X2 y X20 son oligosacáridos (OS) de 0,28 y 2,8kDa, respectivamente. Cabe resaltar que GPC es un método cualitativo donde no es posible cuantificar según la intensidad de los picos a menos que la muestra sea muy homogénea o que contenga compuestos de pesos moleculares similares, simulando ser una sola molécula. Se puede observar que la retención es casi constante en el tiempo e independiente de la temperatura (Figura 5a y 5b) para OS mayores a 40kDa; esto como resultado del peso molecular de corte (MWCO) de la membrana. Además, la intensidad del pico de monosacáridos MS (0,15kDa) en el permeado (Figura 5a y 5b) disminuye ligeramente con la PTM, debido a la acumulación de las especies retenidas en la superficie de la membrana, lo que genera mayor saturación y retención de monosacáridos, y con ello mayor selectividad. De acuerdo con González et al. (2013) y Gullón et al. (2008), esta distribución es atribuida a una mayor presencia de MS, furfural e hidroximetilfurfural (HMF) y según Nabarlatz et al., (2007), las principales implicaciones de estos resultados son que las membranas deben ser operadas a bajas presiones para maximizar la selectividad, aunque esto implicaría una mayor área para obtener el mismo caudal de permeado. Por tanto, a 3bar se obtiene un permeado rico en MS ayudando a la separación de XO_s, lo que

indica que a bajas PTM se aumenta la selectividad de la membrana hacia OS de altos pesos moleculares.

Por otra parte, no se observan cambios importantes en los picos representativos de las moléculas de bajo peso en el permeado, pudiendo decirse que éstos no se verían afectados por el incremento de la temperatura. Se observa también que la distribución de los retenidos (Figura 5c y 5d) no cambia de manera considerable con la presión en las pruebas a 30°C, sin embargo, a 40°C se generan cambios importantes en la distribución de los OS presentes en el hidrolizado al variar la presión. Este comportamiento puede estar relacionado con el pardeamiento no enzimático producido por las reacciones de Maillard, resultado de la despolimerización de los OS a sus componentes mono y disacáridos, reacciones que se ven favorecidas por varios factores entre ellos la temperatura (Bello, 2000); lo que confirma las ventajas de trabajar a 30°C.

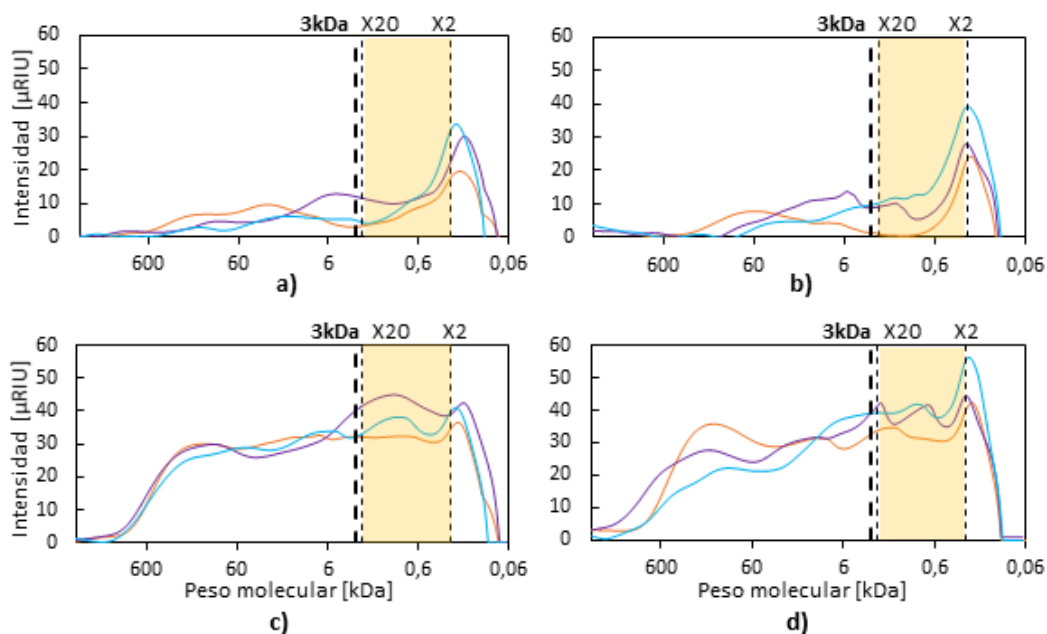


Figura 5. Cromatogramas GPC. Efecto de la presión sobre la distribución de peso molecular de los permeados (a y b) y los retenidos (c y d) con la membrana de 3kDa (GK-polietilenglicol) a 30°C (a y c) y 40°C (b y d) a PTM de 3bar (—), 5bar (—) y 8bar (—), donde X2 y X20 representan oligosacáridos de 0,28 y 2,8kDa, respectivamente.

De acuerdo con los resultados anteriores, tanto la productividad como la distribución de peso molecular se ven afectadas por la temperatura y resultan favorables a 30°C. Por otra parte, la selectividad es afectada por la presión, indicando que a 3bar se logra mayor separación de compuestos de bajos pesos moleculares (MS, furfural e HMF), favoreciendo la separación de XO_s por ultrafiltración.

4.2 Efecto del peso molecular de corte en la separación de XO_s mediante ultrafiltración.

Se realizó el estudio del efecto del MWCO en la ultrafiltración del hidrolizado de pergamino de café según las condiciones seleccionadas en la Etapa 1 (30°C y 3bar), para las membranas de polietilenglicol (1 y 3kDa) y polietersulfona (5 y 10kDa). La Figura 6 presenta la permeabilidad al agua promedio con las membranas limpias para los diferentes MWCO (1, 3, 5 y 10kDa) a PTM de 3bar y 30°C.

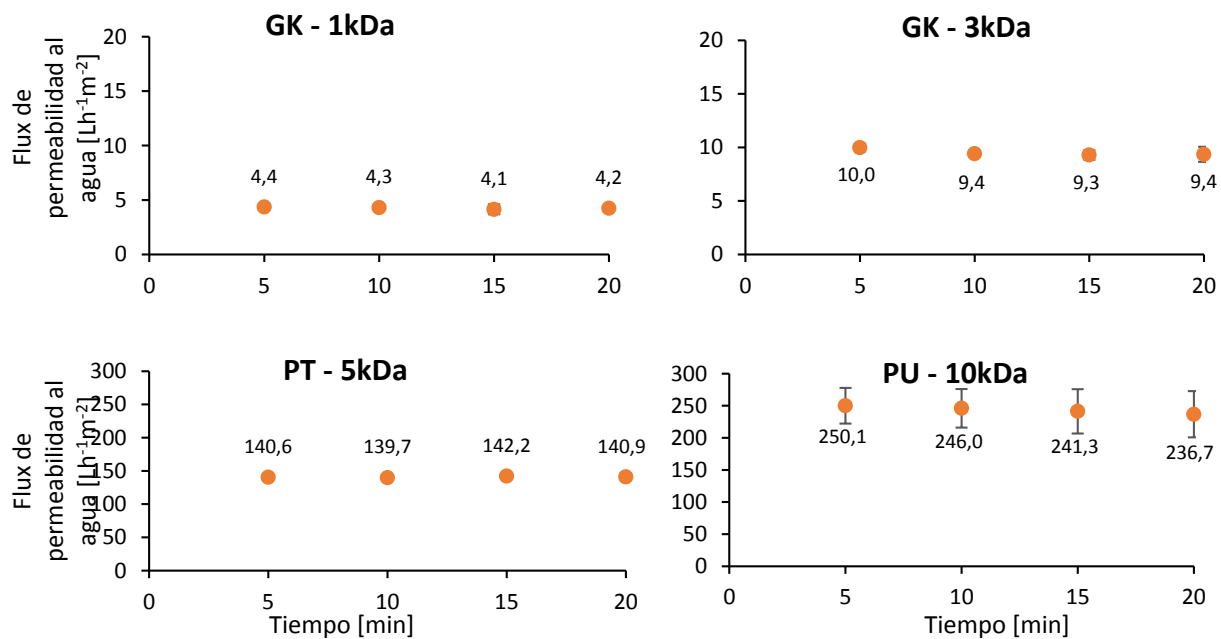


Figura 6. Permeabilidad promedio al agua con las membranas limpias para los diferentes MWCO: 1, 3, 5 y 10kDa a 30°C y 3bar. Desviación media.

En esta figura, se puede observar que los flux de permeado son estables en el tiempo. Además, la permeabilidad al agua de las membranas limpias se calculó como referencia para obtener información sobre las mismas. Estos valores fueron 2; 1,3; 32 y 13 veces más altos que la permeabilidad al hidrolizado (Figura 7) para las membranas de 1, 3, 5 y 10kDa, respectivamente, debido a características del hidrolizado como la densidad y viscosidad que generan una resistencia adicional al flujo a través de la membrana. Estos valores de permeabilidad no presentan una tendencia entre ellos, lo cual puede ser causado por varios factores como: el material, la irregularidad de la superficie, la no homogeneidad de los poros, entre otros. Además, es importante tener en cuenta que los poros tienen formas irregulares, aleatorias y tamaños variados (Hernández *et al.*, 1990).

La Figura 7 presenta la permeabilidad promedio al hidrolizado para todos los MWCO (1, 3, 5 y 10kDa), a PTM de 3bar y 30°C.

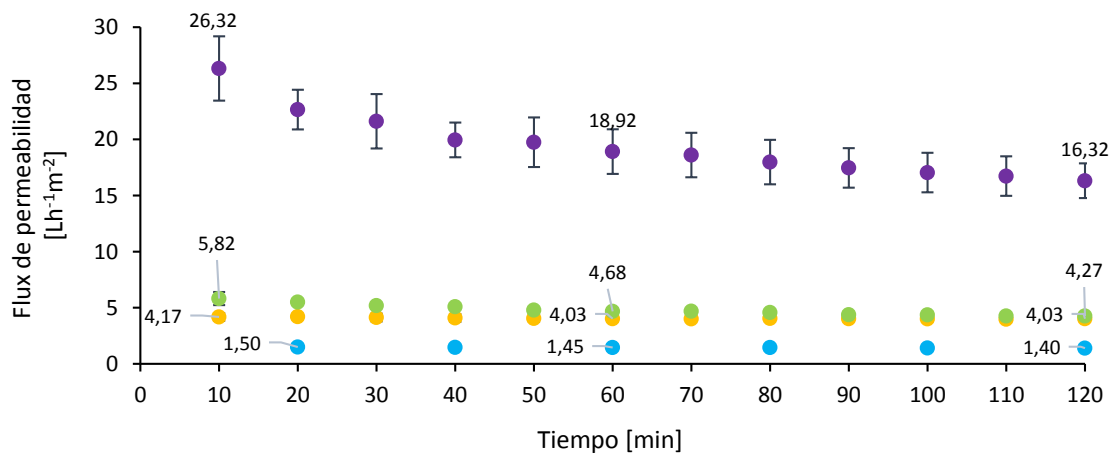


Figura 7. Permeabilidad promedio al hidrolizado con respecto al tiempo para los diferentes MWCO: 1kDa (●), 3kDa (●), 5kDa (●) y 10kDa (●). Desviación media.

En esta figura se observa que los MWCO menores (1, 3 y 5kDa) presentaron una permeabilidad casi constante en el tiempo, debido al umbral de corte, lo cual genera una mayor resistencia al flujo

causada por la acumulación de especies sobre la superficie de la membrana, aumentando la retención de compuestos, y con ello, la selectividad. Además, los flujos de permeabilidad se estabilizan, similar a lo observado en la Etapa 1 (Figura 3), siendo necesario más tiempo para la estabilización con la membrana de 10kDa producto de un mayor ensuciamiento (colmatación), lo cual genera una caída de flux inicial mayor debido a su MWCO. Aunque la membrana de 10kDa posee una caída inicial de flux más pronunciada, la estabilización es 10,7; 3,1 y 2,8 veces más alta que las membranas de 1, 3 y 5kDa, respectivamente, siendo considerablemente mayor respecto a los otros MWCO, posicionando a esta membrana como la más productiva entre las evaluadas.

La Figura 8 presenta los cromatogramas GPC del permeado y retenido con los diferentes MWCO (1, 3, 5 y 10kDa) a PTM de 3bar y 30°C. En esta figura se observa un aumento de los compuestos de bajos pesos moleculares en el permeado con el MWCO. También, se percibe un desplazamiento del corte de la membrana hacia altos pesos moleculares, mostrando que el MWCO aparente de las membranas es más alto que sus valores nominales acorde a lo reportado por Nabarlantz, (2007) utilizando cáscaras de almendra. Por otra parte, las membranas de 3kDa (polietilenglicol) y 5kDa (polietersulfona), permitieron el paso de MS en la misma proporción, sin embargo, la retención de OS no se comporta de la misma manera. Esto se puede atribuir al cambio de material o a diferentes mecanismos de incrustamiento presentes en las membranas (Amarós *et al.*, 2013).

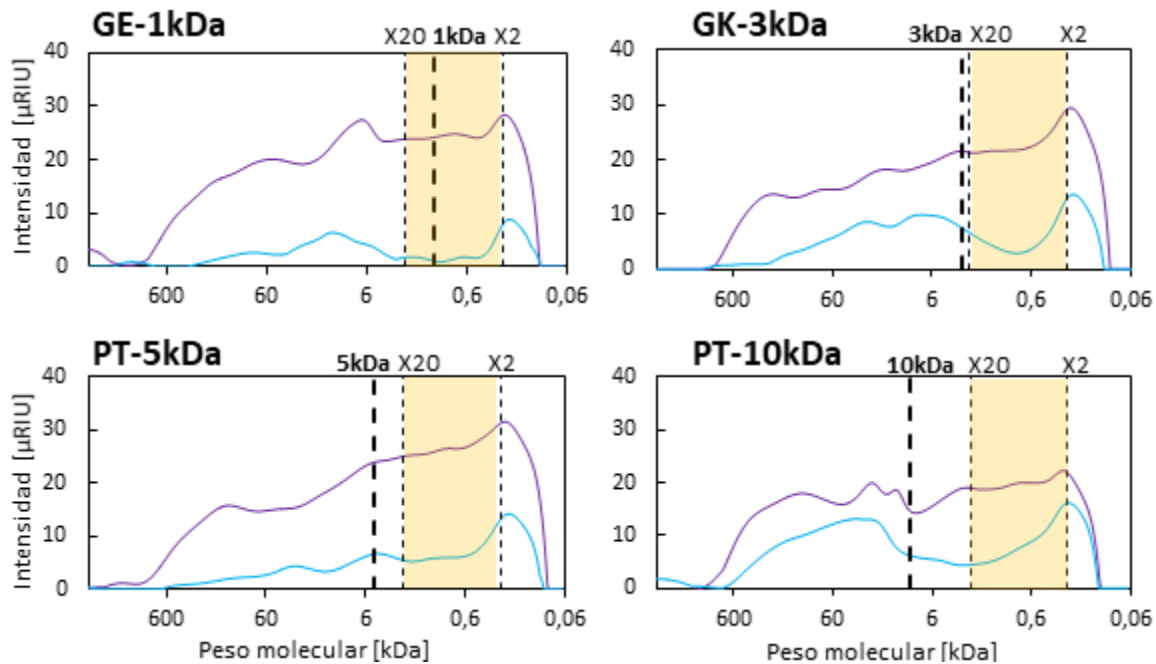


Figura 8. Cromatogramas GPC. Influencia del MWCO sobre la distribución de peso molecular del permeado (—) y retenido (—) del hidrolizado, donde X2 y X20 representan oligosacáridos de 0,28 y 2,8kDa, respectivamente.

La distribución de peso molecular obtenida con la membrana de 3 y 10kDa fue similar, ya que presentan dos secciones representativas en el permeado. La primera sección se genera debido a que las membranas permitieron el paso de OS por encima de su tamaño nominal en un rango entre 2-250kDa y 15-600kDa, respectivamente. Esto puede ser ocasionado por varios factores: la no homogeneidad de los poros que permite la existencia de poros más grandes que 3 y 10kDa, la forma estructural de la molécula ya que no poseen formas esféricas, o la interacción membrana-molécula (Amarós *et al.*, 2013). La segunda sección destaca un rango de retención de OS entre 0,43-1kDa y 0,6-6kDa con la membrana de 3 y 10kDa, respectivamente; esta rango se debe al mismo MWCO de cada membrana. Dicho comportamiento es más acentuado en la membrana de 10kDa debido a su mayor MWCO. En cuanto al retenido, la membrana de 10kDa genera alta concentración de OS con peso molecular entre 0,9 y 16kDa y por encima de los 40kDa, mientras

que la membrana de 3kDa genera retenidos con OS de pesos moleculares alrededor de 1kDa y por encima de 250kDa.

Adicionalmente, se logra observar que la membrana de 1kDa no permite el paso de OS con pesos moleculares mayores a 40kDa y que el paso de compuestos de bajo peso molecular es bajo, generando retenidos con OS de pesos moleculares mayores a 0,6kDa, debido a su bajo MWCO; lo que está igualmente relacionado con la mayor resistencia al flujo a través de la membrana presentada previamente en la Figura 7. Por otra parte, la membrana de 5kDa muestra un comportamiento apropiado para la separación de compuestos de bajo peso molecular y tiene gran rechazo hacia compuestos con masas molares mayores a 20kDa, permitiendo la remoción de gran cantidad de compuestos de bajo peso molecular como MS y productos de degradación (furfural e HMF), haciendo a esta membrana más selectiva hacia OS mayores a 20kDa, conforme el objetivo del proyecto.

Los resultados mostrados finalmente reportaron que la membrana de 5kDa posee buena retención de OS de xilosa (XOs) y que según la distribución de peso molecular, esta membrana demostró un comportamiento adecuado para la separación de MS. Por otra parte, la membrana de 10kDa, permite el paso de compuestos con altos pesos moleculares, lo que generaría mayores pérdidas de OS de alto peso molecular (los cuales se desea que sean retenidos por la membrana). Sin embargo, los resultados de permeabilidad (Figura 7) de esta membrana mostraron una mayor productividad con respecto a los demás los MWCO, motivo por el cual es tenida en cuenta para la siguiente etapa.

4.3 Evaluación del proceso de ultrafiltración de xilo-oligosacáridos mediante concentración (modo batch) y diafiltración.

Se realizaron etapas de concentración y diafiltración consecutivas a las condiciones seleccionadas en la Etapa 1 (3bar y 30°C), usando los MWCO de 5 y 10kDa. Estas membranas, reportaron mejor retención de XO_s y mayor productividad, respectivamente, en la Etapa 2. Se seleccionaron permeados al inicio (PI), en la mitad (PM) y al final (PF) de la prueba, para analizar por GPC. La permeabilidad se llevó a cabo hasta lograr un factor de concentración volumétrico de 3.

- **Proceso de concentración.**

La Figura 9 muestra los cromatogramas GPC de la distribución de peso molecular del hidrolizado inicial, y los permeados y retenidos obtenidos del proceso de concentración con los MWCO de 5 y 10kDa.

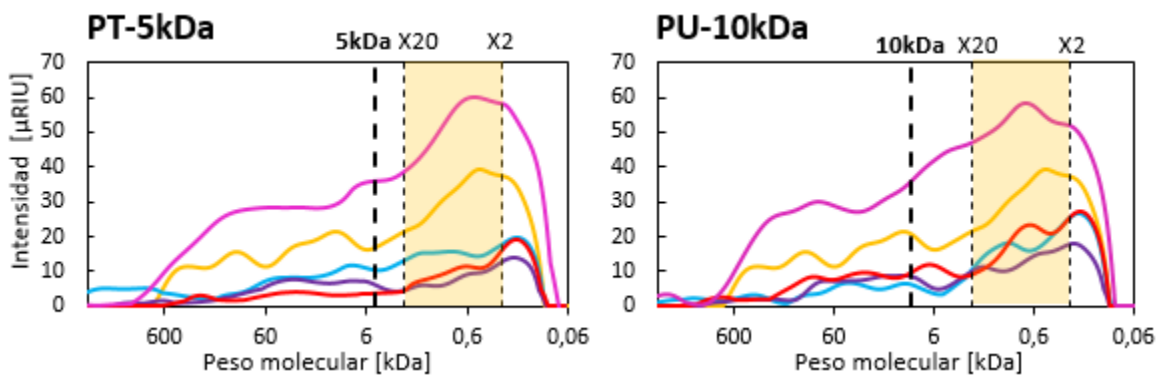


Figura 9. Cromatogramas GPC. Efecto del proceso de concentración sobre la distribución de peso molecular del permeado, PI (—), PM (—), PF (—) y Retenido concentrado (—) obtenido con las membranas de 5 y 10kDa (polietersulfona) a PTM de 3bar y 30°C respecto al Hidrolizado inicial (—), donde X2 y X20 representan oligosacáridos de 0,28 y 2,8kDa, respectivamente.

En esta figura se observa que las membranas de 5 y 10kDa experimentan rechazo total de OS con peso molecular mayor a 80 y 230kDa, respectivamente. También se observa que los permeados obtenidos con los dos MWCO no cambian sus características durante la prueba, sin

embargo, este efecto no es tan notorio en el permeado inicial, lo cual puede ser ocasionado por la no estabilización de la capa de polarización al inicio de la prueba (Amarós et al., 2013). Además, en los permeados medios y finales, obtenidos con las membranas de 5 y 10kDa se observa que retienen compuestos de 2,5 y 5kDa, respectivamente; esto se debe a la posible estabilización de la capa de polarización, la cual evita el paso de compuestos de bajo peso molecular hacia el permeado y a la heterogeneidad en la distribución de los poros al interior de las membranas.

Por otra parte, la membrana de 10kDa permitió el paso de compuestos con un grado de polimerización más amplio que la membrana de 5kDa, debido a su umbral de corte.

Se observa que la distribución de peso molecular del retenido obtenido con las membranas de 5 y 10kDa, aumentó para los XO_s (entre X₂ y X₂₀) en comparación con el hidrolizado inicial, mostrando que el proceso de concentración permitió el aumento de XO_s. Sin embargo, se debe tener en cuenta que lo observado son intensidades y no necesariamente el aumento en la intensidad implica un aumento de la concentración en la misma proporción.

También se observa que la concentración de XO_s en los permeados obtenidos fue mayor con la membrana de 10kDa, mostrando una mayor selectividad de XO_s con la membrana de 5kDa, acorde a lo reportado por Gullón *et al.*, (2008) quienes también utilizaron este MWCO para separar XO_s presentes en hidrolizados de *Eucalyptus Globulus*. Además, se debe tener en cuenta que las membranas no poseen retención total, permitiendo el paso de OS al permeado a una concentración que aumenta con la concentración en el retenido.

- **Proceso de diafiltración.**

Esta etapa se realizó a partir del retenido obtenido de la etapa de concentración, diluyendo con agua destilada y filtrando hasta un factor volumétrico de 3.

La Figura 10 muestra los cromatogramas GPC de los permeados, retenidos e hidrolizado inicial de la etapa de diafiltración para la membrana de 5kDa y 10kDa. En esta figura se observa que la membrana de 5kDa no permitió el paso de compuestos por encima de 0,28kDa (X2) y el paso de compuestos de bajo peso molecular fue limitado en comparación con la membrana de 10kDa, la cual permitió no solo el paso de mayor cantidad de compuestos de bajo peso molecular (0,06 y 0,6kDa), sino también de OS. Además, la intensidad en la zona entre 60 y 600kDa con los dos MWCO permaneció constante en el retenido final de diafiltración respecto al retenido concentrado, y aumentó en comparación con el hidrolizado inicial y el retenido diluido. Este comportamiento se debe a la alta retención que poseen las membranas hacia estos compuestos, sin embargo, es más notorio con la membrana de 5kDa dado a su MWCO.

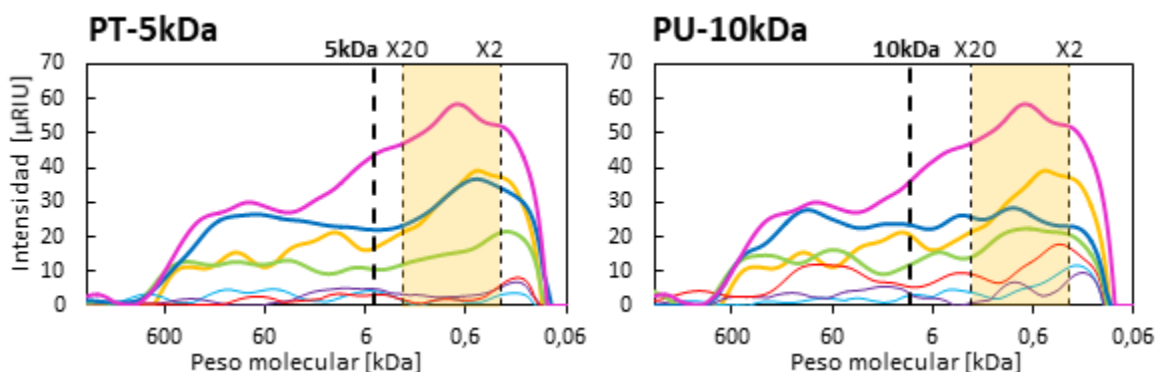


Figura 10. Cromatogramas GPC. Efecto del proceso de diafiltración sobre la distribución de peso molecular de PI (—), PM (—), PF (—), Retenido concentrado (—) y Retenido final de diafiltración (—) a 3bar y 30°C. con las membranas de 5 y 10kDa (polietersulfona) con respecto al hidrolizado inicial (—), donde X2 y X20 representan oligosacáridos de 0,28 y 2,8kDa, respectivamente.

Por otra parte, con la membrana de 5kDa la intensidad del pico entre X2-X20 en el retenido final de diafiltración, aumentó hasta alcanzar la intensidad del hidrolizado inicial, contrario a la membrana de 10kDa la cual fue similar al retenido diluido, observando que la membrana de 10kDa

permitió el paso de mayor cantidad de compuestos; es decir, generó mayores pérdidas de compuestos entre 0,28 y 1kDa que la membrana de 5kDa.

Teniendo en cuenta lo anterior, la membrana de 5kDa podría garantizar un proceso de remoción de MS y concentración de OS en el retenido mediante ultrafiltración, conforme a los estudios realizados por González *et al.*, (2013) utilizando hidrolizados de *Pinus Pinaster*.

La Figura 11 presenta la permeabilidad al hidrolizado de pergamino de café en los procesos de diafiltración y concentración. Según esta figura, la membrana de 10kDa posee una permeabilidad superior, sin embargo, la pérdida de flux inicial es considerable, ya que a los 120min logra una permeabilidad similar a la membrana de 5kDa. Esta caída en el flux se debe a la formación de una capa de polarización producto de la acumulación de las especies rechazadas sobre la membrana (Amarós *et al.*, 2013). Además, se puede observar que esta membrana no alcanzó la estabilización del flux debido a la menor duración del experimento. Sin embargo, su alta productividad permitió que los experimentos duraran menos tiempo, representando una disminución del 45,5 y 108,3% en el proceso de diafiltración y concentración, respectivamente. Además, la membrana de 5kDa logró la estabilización de la capa de polarización permitiendo que la permeabilidad se estabilizara después de los 200min, debido a su menor MWCO.

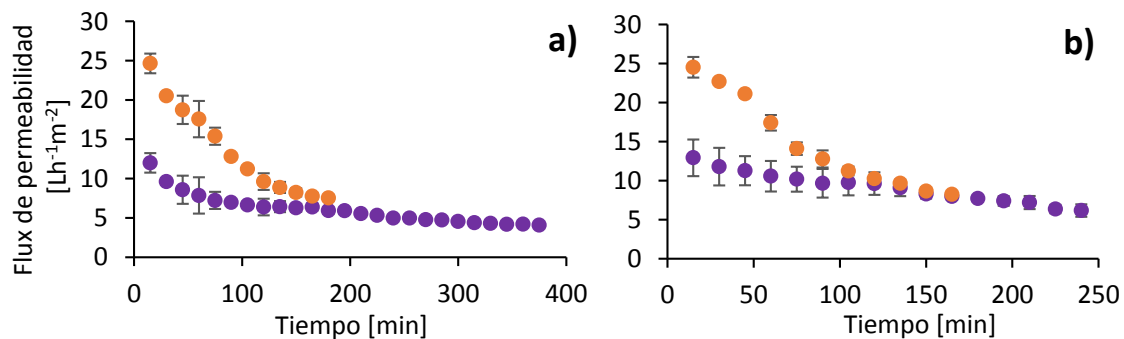


Figura 11. Permeabilidad promedio al hidrolizado para el proceso de concentración (a) y diafiltración (b) con los MWCO PT-5kDa (●) y PU-10kDa (●) a 3bar y 30°C. Desviación media.

Las muestras obtenidas con la membrana de 5kDa se analizaron por HPLC de forma preliminar, y se presentan a manera de ejemplo en la Figura 12. En esta figura se muestran las concentraciones de los MS y sus respectivos OS en los retenidos concentrado, diluido y diafiltrado, e hidrolizado inicial del proceso de concentración y diafiltración.

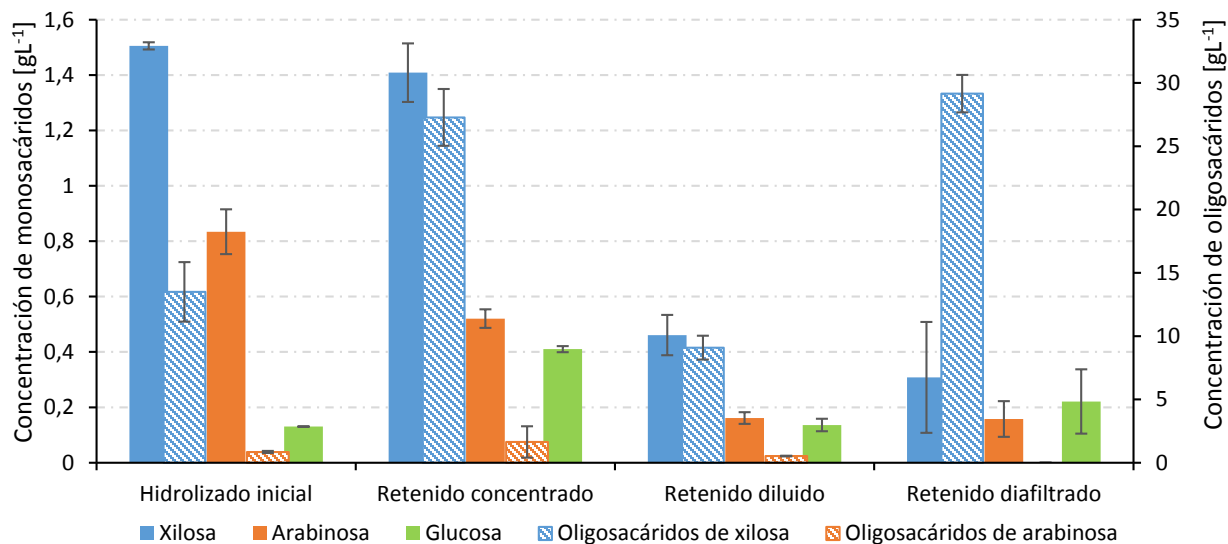


Figura 12. Concentración de los compuestos de los retenidos de la etapa de concentración y diafiltración con la membrana de 5kDa (polietersulfona) a 3bar y 30°C. Desviación media.

En esta figura se puede observar, que durante el proceso de concentración la cantidad de MS se mantiene casi constante en relación con el hidrolizado inicial, debido a que la membrana no posee retención hacia estos compuestos. Esta concentración en MS disminuye después del proceso de diafiltración, confirmando lo observado en la distribución de peso molecular (Figura 10), donde se observó que este proceso ayudó en la remoción de compuestos de bajo peso molecular (MS y productos de degradación como furfural e HMF). Por otra parte, la cantidad de OS de xilosa (XOs) aumentó después del proceso de concentración, debido a la retención que posee esta membrana hacia los compuestos de alto peso molecular, alcanzando el mismo nivel de concentración al

finalizar la etapa de diafiltración; concentrando en ambos casos superior al del hidrolizado inicial. Al comparar el hidrolizado diafiltrado con el hidrolizado inicial se observa que las etapas de concentración y diafiltración permitieron la concentración de XO_s, y la remoción de MS (principalmente xilosa). En cuanto a los OS de arabinosa, no se puede analizar su comportamiento, debido al bajo nivel de concentración y las desviaciones presentadas.

Teniendo en cuenta los resultados de esta etapa experimental se puede deducir que realizar procesos de diafiltración y concentración consecutivos con las membranas de 5 y 10kDa permitió, en los hidrolizados de pergamino de café obtenidos por autohidrólisis, la remoción de compuestos de bajo peso molecular como MS, y productos de degradación como furfural e HMF. Sin embargo, la membrana de 10kDa presentó mayores pérdidas de XO_s.

5. Conclusiones

- Se estudió el efecto de la presión transmembrana (PTM) y de la temperatura sobre la distribución de peso molecular y la permeabilidad en la ultrafiltración de hidrolizado de pergamino de café con membrana de 3kDa de umbral de corte. Los resultados mostraron que la distribución de peso de los retenidos no fue afectada considerablemente a 30°C, además, la temperatura tuvo baja influencia sobre la permeabilidad de la membrana con un flux promedio de 2,38Lh⁻¹m⁻²bar⁻¹. Por otra parte, la permeabilidad y la retención de monosacáridos (MS) aumentó con la presión, por lo tanto, a 3bar se obtuvo mayor remoción de compuestos de bajo peso molecular, como furfural, hidroximetilfurfural (HMF) y MS < 0,28kDa.

- Se evaluó la influencia del umbral de corte de las membranas en la separación de xilo-oligosacáridos (XOs) mediante ultrafiltración de hidrolizado de pergamino de café. Para todos los umbrales de corte (MWCO de 1, 3, 5 y 10kDa), la permeabilidad al hidrolizado disminuyó 7, 3, 36, 61%, respectivamente, hasta estabilizarse debido a la posible formación de una capa de polarización, alcanzando valores similares para las membranas de 1, 3 y 5kDa con flux promedio de 3,23Lh⁻¹m⁻² al cabo de 2h. De un lado, la membrana de 10kDa obtuvo la mayor permeabilidad (3 veces mayor), y por el otro, la membrana de 5kDa generó una mejor remoción de MS y productos de degradación como furfural e HMF.

- Se analizó la ultrafiltración de XO_s mediante procesos de concentración y diafiltración consecutivos hasta un factor de concentración y dilución volumétrico de 3 con los MWCO de 5 y 10kDa. La productividad de la membrana de 10kDa permitió una disminución del tiempo de operación equivalente al 45,5 y 108,3% en los procesos de diafiltración y concentración, respectivamente. Por otro lado, el proceso de concentración permitió aumentar la cantidad de XO_s con los dos umbrales de corte (5 y 10kDa) y la etapa de diafiltración ayudó con la eliminación de compuestos indeseados. Sin embargo, la membrana de 10kDa presentó mayores pérdidas de XO_s en relación a la de 5kDa.

- Finalmente, los resultados obtenidos mostraron la capacidad de la ultrafiltración con membranas para separar los XO_s de compuestos de bajo peso molecular como monosacáridos, furfural e HMF, mejorando las características de los hidrolizados para posibles aplicaciones en la industria como ingredientes activos para alimentos funcionales.

6. Trabajos futuros

- Profundizar en el estudio de las etapas de concentración y diafiltración consecutivos variando el umbral de corte con el fin de seleccionar compuestos entre 0,28 y 2,8kDa. Para ello, se recomienda realizar pruebas concentrando con la membrana de 10kDa (mayor permeabilidad) y diafiltrando con la membrana de 5kDa, y al permeado obtenido realizar el proceso de concentración y diafiltración solo con la membrana de 5kDa, de forma a recuperar lo XO_s perdidos con la membrana de 10kDa.
- Considerar el material y la estructura de las membranas como una variable a estudiar, debido a que existe gran variedad de membranas que podrían mejorar la productividad y la selectividad. En relación con las membranas poliméricas planas, las membranas cerámicas son una buena opción ya que poseen, alta estabilidad química y térmica y además son reutilizables, lo cual disminuiría costos a nivel industrial.
- Profundizar en la estandarización del método de cuantificación HPLC para concentraciones por debajo de 1g/L, como estrategia para mejorar los estudios aportando información cuantitativa al análisis de los resultados.
- Analizar el posible escalado del equipo piloto estudiando el efecto que este genera sobre las variables del proceso de ultrafiltración de hidrolizados de pergamino de café, con el fin de procesar mayor cantidad de hidrolizados y así aumentar la productividad.

Referencias Bibliográficas

- Amarós, L., Amaya, E., Errico, M., Lambertucci, M., Miers, J., Mogro, E., Quispe, L., Recalt, M. y Tocho, E. (2013). *Diálisis y Ultrafiltración*. Retrieved from [http://ufq.unq.edu.ar/Docencia-Virtual/BQblog/Dialisis y ultrafiltracion.pdf](http://ufq.unq.edu.ar/Docencia-Virtual/BQblog/Dialisis_y_ultrafiltracion.pdf)
- Ariza, J., Caparrós, S., y Jiménez, L. (2005). *Subproductos en la fabricación de pastas. Autohidrólisis de las hemicelulosas. Obtención de pasta celulósica a partir de materias primas alternativas a las convencionales*. España: Graficas Sol.
- Barragán, J. (2008). *Caracterización del uso de la ultrafiltración tangencial para la concentración de biomoléculas de uvilla (Physalis peruviana L.) y granadilla (Passiflora ligularis L.)* (tesis de pregrado). Escuela Politécnica Nacional, Facultad de Ingeniería Química y Agroindustrial, Quito, Ecuador.
- Bello, J. (2000). *Ciencia bromatológica. Principios generales de los alimentos*, España, Madrid: Ediciones Diaz de Santos, S.A.
- Caparrós, S (2009). *Fraccionamiento integral de vegetales no alimentarios para la obtención de pasta celulósica y subproductos* (tesis doctoral). Universidad de Huelva, Huelva, España. Recuperado de: <http://rabida.uhu.es/dspace/bitstream/handle/10272/328/b15296283-1.pdf>
- Caparrós, S., Garrote, G., Ariza, J., Díaz, M. J., y López, F. (2007). Xylooligosaccharides production from *Arundo donax*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(14), 5536–5543. Recuperado de <https://doi.org/10.1021/jf063159p>
- Cardona, D., y Suarez, J. (2012). *Aprovechamiento de los residuos sólidos provenientes del beneficio del café, en el municipio de Betania Antioquia: usos y aplicaciones* (tesis de pregrado). Corporación Uniersitaria Lasallista, Antioquia, Colombia. Recuperado de http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/627/1/APROVECHAMIENTO_RESIDUOS_SOLIDOS_BENEFICIO_CAFE.pdf

- Carvajal, J. J., Aristizábal, I. D., y Oliveros, C. E. (2012). Desarrollo y maduración physical and mechanical properties evaluation of coffee fruit (*Coffea arabica* L. var. Colombia) during its development and maturation. *DYNA*, 79(173), 116–124. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/dyna/v79n173/a14v79n173.pdf>
- Chacón, A. (2005). Tecnologías de membranas en la agroindustria láctea. *Agronomía Mesoamericana*, 17(2), 243–264. Recuperado de <http://www.revistas.ucr.ac.cr/index.php/agromeso/article/view/5164>
- Cuartas, B. (2005). *Estudio del proceso de nanofiltración para la desmineralización de lactosuero dulce* (tesis doctoral). Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España. Recuperado de <https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/1878>
- González, M., Gullón, P., Moure, A., Domínguez, H., y Parajó, J. (2010). Patente España 2 346 124 A1. Madrid. Recuperado de <http://patentados.com/patente/proceso-para-la-purificacion-de-xilooligosacaridos/>
- González, M., Rivas, S., Santos, V., y Parajó, J. C. (2013). Fractionation of extracted hemicellulosic saccharides from *Pinus pinaster* wood by multistep membrane processing. *Journal of Membrane Science*, 428, 281–289. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2012.10.021>
- Gullón, P., González-Muñoz, M. J., Domínguez, H., y Parajó, J. C. (2008). Membrane processing of liquors from *Eucalyptus globulus* autohydrolysis. *Journal of Food Engineering*, 87(2), 257–265. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.11.032>
- Hernandez, A., Tejerina, F., Arribas, J., Martínez, L., y Martínez, F. (1990). Procesos de transporte y separación en membranas. Microfiltración, ultrafiltración y osmosis inversa. Murcia, Madrid: LERKO PRINT, S.A. Recuperado de <https://books.google.com.co/books?id=jZ0Z9-G8YdoC&pg=PA20&dq=membranas%20en%20ultrafiltracion&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwje86mLgfTXAhVH4CYKHVd1DJwQ6AEIKzAB#v=onepage&q=membranas%20en%20ultrafiltracion&f=false>
- Ibañez, R. (2007). *Estudio de la ultrafiltración de proteínas modelo con membranas cerámicas* (tesis doctoral). Universidad de Granada, Granada, España. Recuperado de <http://digibug.ugr.es/bitstream/10481/1534/1/16712183.pdf>

- Lopetegui, J., Gutiérrez, R., Meabe, E., y Sancho, L. (2008). Limpieza química de membranas de MF y UF en el tratamiento de aguas. *Tecnología Del Agua*, 28(300), 48–54. Recuperado de http://www.likuidnanotek.com/doc/limpieza_quimica.pdf
- Lovato, M. (2015). *Concentración por ultrafiltración tangencial de extractos enzimáticos con actividad ligninolítica y celulolítica generados por el hongo Phanerochaete chrysosporium* (tesis de pregrado). Universidad Politécnica Nacional, Quito, Ecuador. Recuperado de: <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/10547/1/CD-6241.pdf>
- Mussatto, S. I., y Mancilha, I. M. (2007). Non-digestible oligosaccharides: A review. *Carbohydrate Polymers*, 68(3), 587–597. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.12.011>
- Nabarlatz, D. (2007). *Autohydrolysis of agricultural by-products for the production of xylo-oligosaccharides* (tesis doctoral). Universitat Rovira I Virgili, Tarragona, España. Recuperado de <http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/8540/ThesisNabarlatz.pdf;sequence=1>
- Nabarlatz, D., Torras, C., Garcia-Valls, R., y Montané, D. (2007). Purification of xylo-oligosaccharides from almond shells by ultrafiltration. *Separation and Purification Technology*, 53(3), 235–243. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2006.07.006>
- Neira, F. A. (2010). *Evidencia del flux crítico para la anticipación y control del ensuciamiento en membranas de nanofiltración* (tesis de maestría). Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México. Recuperado de <http://www.ptolomeo.unam.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/132.248.52.100/3761/neirarui z.pdf?sequence=1>
- Ochoa, M., Aispuro, E., Vargas, I., y Martínez, M. (2012). Plant Cell Wall Polymers: Function, Structure and Biological Activity of Their Derivatives. *INTECH*, 10(4), 63–86. Recuperado de <http://dx.doi.org/10.5772/46094>
- Otieno, D. O., y Ahring, B. K. (2012). The potential for oligosaccharide production from the hemicellulose fraction of biomasses through pretreatment processes: Xylooligosaccharides (XOS), arabinooligosaccharides (AOS), and mannoooligosaccharides (MOS). *Carbohydrate Research*, 360, 84–92. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.carres.2012.07.017>

- Palacio, L. (1998). *Caracterización estructural y superficial de membranas microporosas* (tesis doctoral). Universidad de Valladolid, Valladolid, España.
- Parajó, J. C., Garrote, G., Cruz, J. M., y Dominguez, H. (2004). Production of xylooligosaccharides by autohydrolysis of lignocellulosic materials. *Trends in Food Science and Technology*, 15(3–4), 115–120. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.09.009>
- Pinelo, M., Jonsson, G., y Meyer, A. S. (2009). Membrane technology for purification of enzymatically produced oligosaccharides: Molecular and operational features affecting performance. *Separation and Purification Technology*, 70(1), 1–11. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2009.08.010>
- Riquelme, L. F. (2015). *Desarrollo Por Ultrafiltración De Un Concentrado Proteico a Partir De Lactosuero* (tesis de pregrado). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D. C., Colombia. Recuperado de <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Roberfroid, M., y Slavin, J. (2000). Non-digestible oligosaccharides. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(6), 461–480. Recuperado de <https://doi.org/10.1080/10408690091189239>
- Sanabria, J. (2016). *Caracterización de biomasa residual agrícola para la evaluación de su uso como materia prima en la producción de oligosacáridos* (tesis de pregrado). Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.
- Sandoval, M. y Viviescas, P. (2017). *Autohidrólisis de residuos lignocelulósicos de la agroindustria colombiana: Análisis del proceso para la producción de xilo-oligosacáridos (XOs)* (tesis de pregrado). Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.
- Saval, S. (2012). Aprovechamiento de Residuos Agroindustriales : Pasado , Presente y Futuro. *BioTecnología*, 16(2), 14–46. Recuperado de http://www.smbb.com.mx/revista/Revista_2012_2/Saval_Residuosagroindustriales.pdf
- Sterlitech Corporation (2017). Membrane chemical cleaning: Why is it required and How is it performed?. Washington, EE.UU.: Publicado en Sterlitech. Recuperado de <https://www.sterlitech.com/blog/post/membrane-chemical-cleaning>

- Suarez, A. (2016). *Propuesta de dimensionamiento de un sistema de ultrafiltración, para tratar agua permeada almacenada* (tesis de pregrado). Fundación Universidad de Américas, Bogotá D.C, Colombia. Recuperado de <http://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/481/1/1026278015-2016-2-IQ.pdf>
- Vázquez, M. J., Alonso, J. L., Domínguez, H., y Parajó, J. C. (2001). Xylooligosaccharides: Manufacture and applications. *Trends in Food Science and Technology*, 11(11), 387–393. Recuperado de [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(01\)00031-0](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(01)00031-0)
- Voragen, A. G. J. (1998). Technological aspects of functional food-related carbohydrates. *Trends in Food Science & Technology*, 9(8–9), 328–335. Recuperado de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224498000594>
- Wang, Y. (2009). Prebiotics: Present and future in food science and technology. *Food Research International*, 42(1), 8–12. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2008.09.001>

Apéndices

Apéndice A. Proceso de ultrafiltración detallado.

La Figura A1 describe todo el proceso experimental y todas las variables requeridas durante la prueba de la ultrafiltración, para el cálculo de la permeabilidad al agua y al hidrolizado.

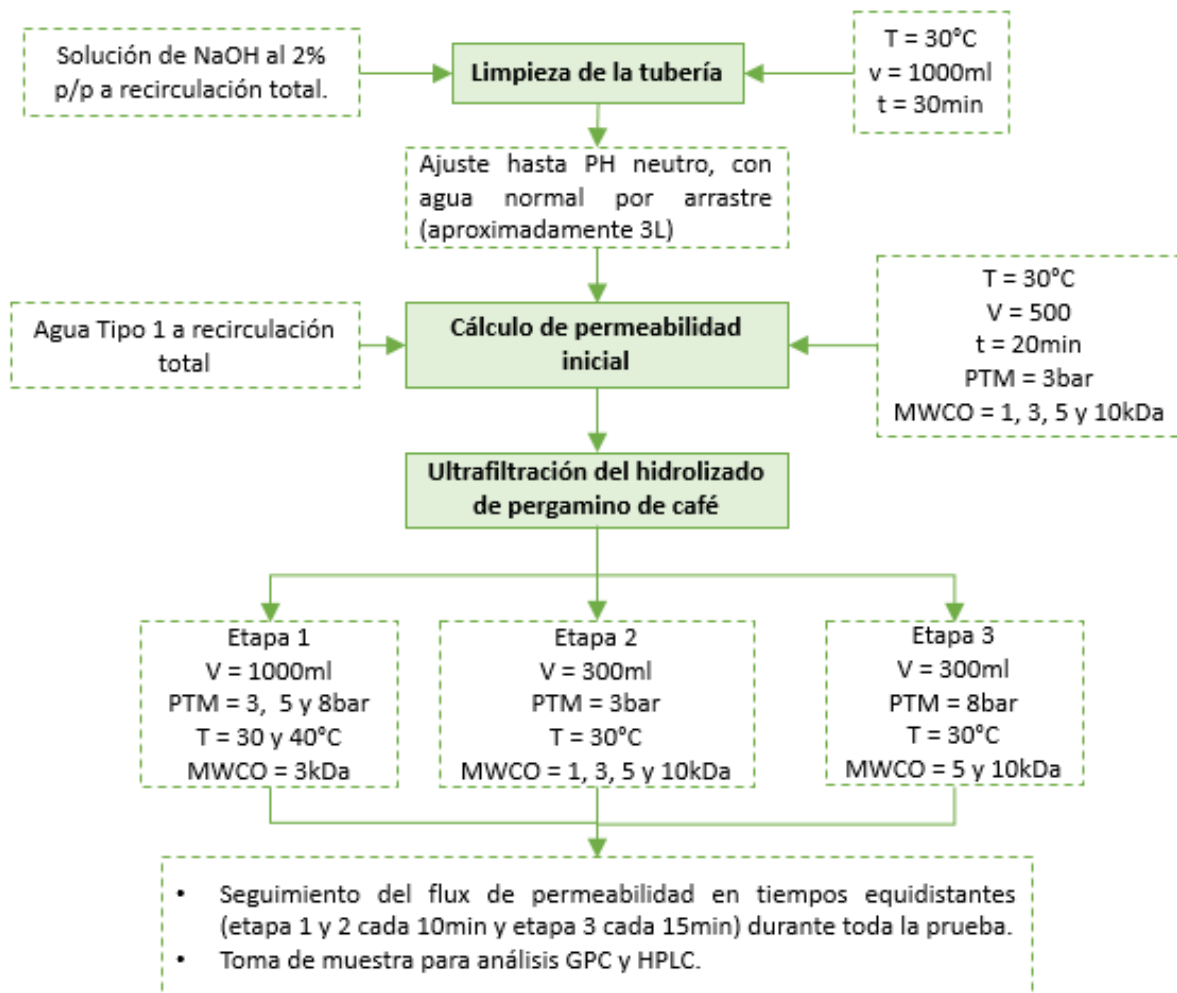


Figura A1. Diagrama del protocolo del proceso de ultrafiltración del hidrolizado de pergamino de café.

Apéndice B. Calibración GPC.

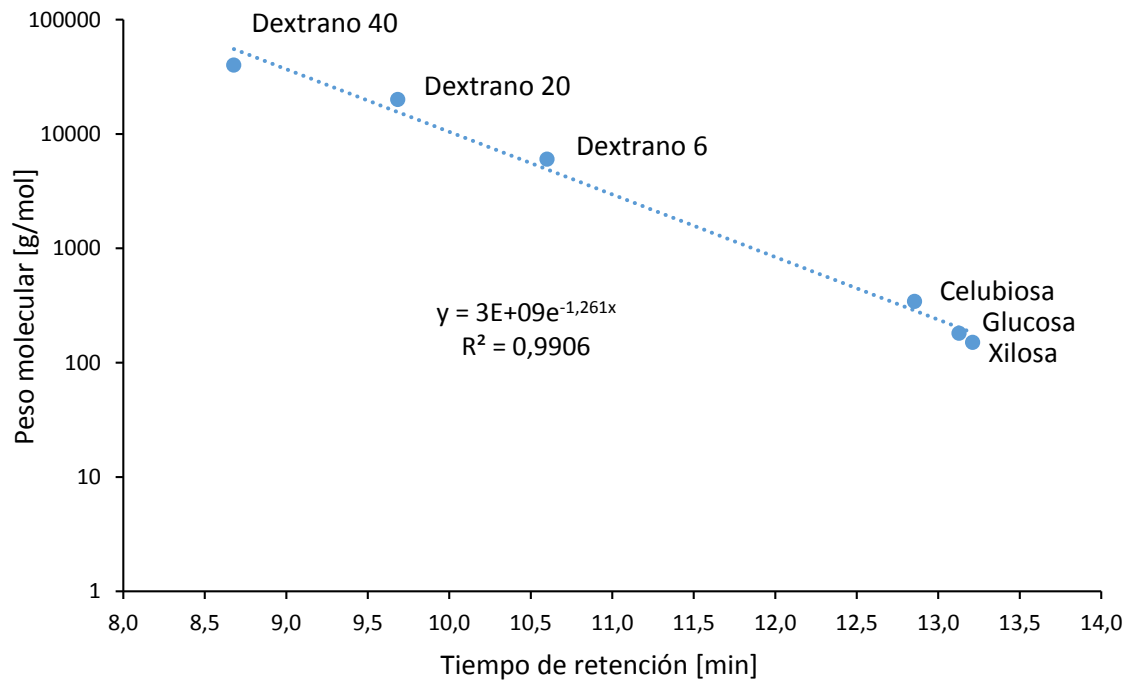


Figura B1. Curva de calibración GPC.

Tabla B1.

Datos recolectados para la curva de calibración GPC.

Compuesto	Peso [gmol ⁻¹]	Tiempo de Retención [min]
Xilosa	150,13	13,21
Glucosa	180,1559	13,13
Celubiosa	342,2965	12,86
Dextrano 6	6.000	10,60
Dextrano 20	20.000	9,68
Dextrano 40	40.000	8,68

Apéndice C. Calibración HPLC.

• **Arabinosa.**

Tiempo de retención: 6,080min.

Tabla C1.

Datos obtenidos con HPLC para la curva de calibración de arabinosa.

Concentración [gL ⁻¹]	Área HPLC
0	0
1	2,74
2	5,19
3	7,00
5	13,29
7	19,02
10	25,67

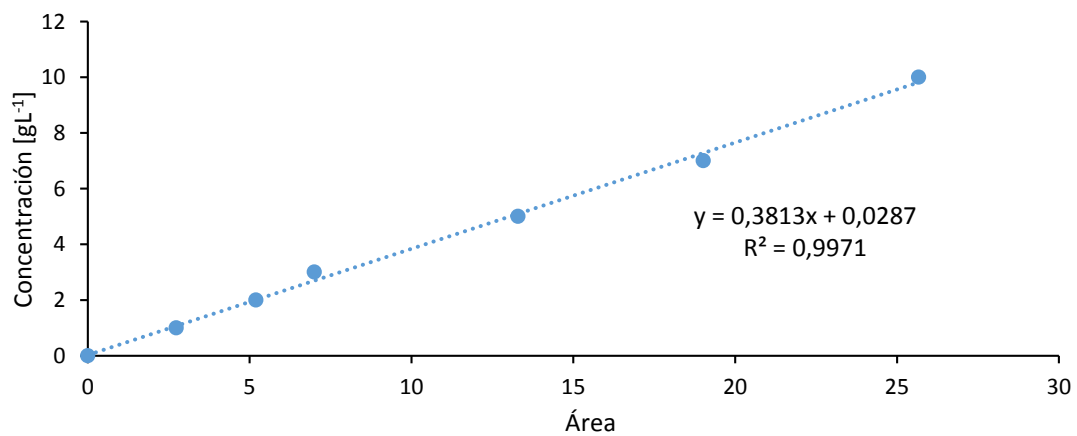


Figura C1. Curva de calibración de arabinosa.

- **Glucosa.**

Tiempo de retención: 6,735min.

Tabla C2.

Datos obtenidos con HPLC para la curva de calibración de glucosa.

Concentración [gL ⁻¹]	Área HPLC
0	0
1	3,45
2	6,72
3	9,25
5	14,66
7	21,72
10	30,54

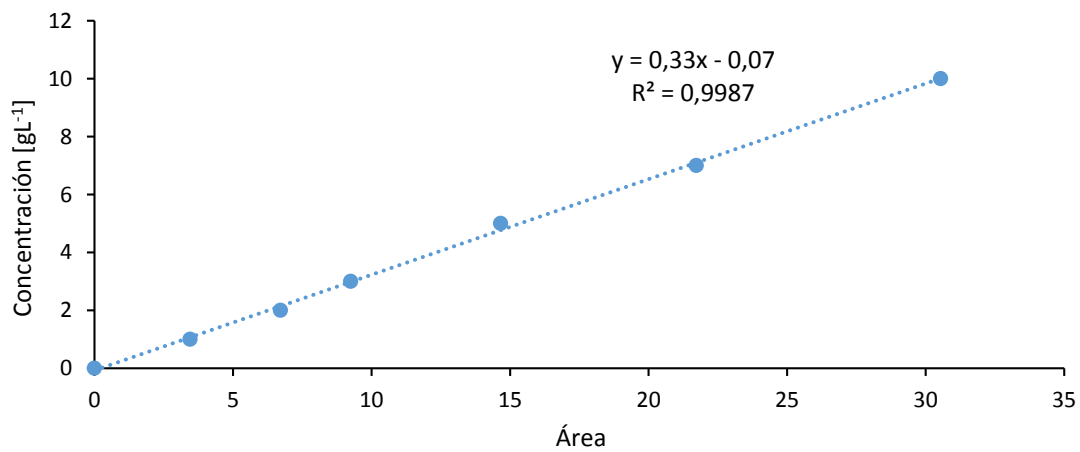


Figura C2. Curva de calibración de glucosa.

- **Xilosa.**

Tiempo de retención: 5,584min.

Tabla C3.

Datos obtenidos con HPLC para la curva de calibración de xilosa.

Concentración [gL ⁻¹]	Área HPLC
0	0
1	2,07
2	4,14
3	6,31
5	10,40
7	14,44
10	21,11

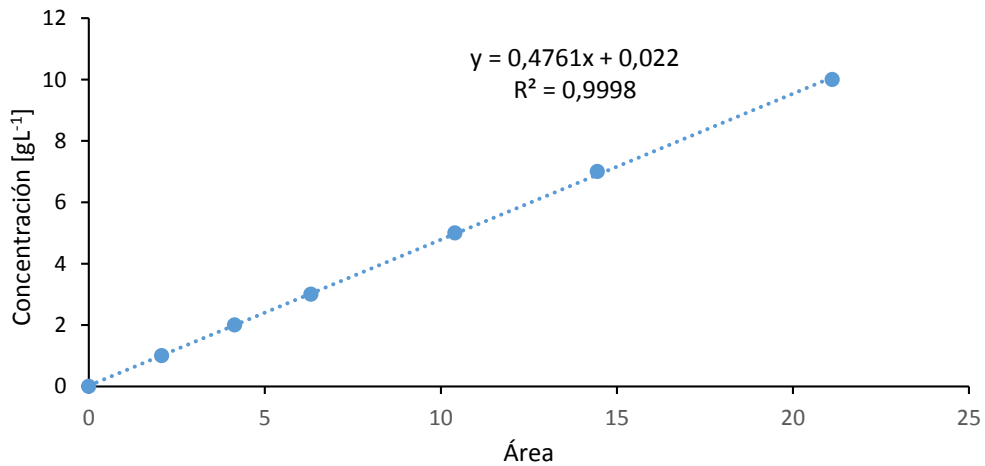


Figura C3. Curva de calibración de xilosa.