

**EVALUACIÓN DE LOS POLIFENOLES EXTRAÍDOS A PARTIR DE RESIDUOS
DE Coffea arabica, PARA LA PRODUCCIÓN DE UN COAGULANTE NATURAL**

**DANIELA CHACUA MOJICA
MÓNICA ALEJANDRA RODRÍGUEZ MARTÍNEZ**

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ D.C.
2018**

**EVALUACIÓN DE LOS POLIFENOLES EXTRAÍDOS A PARTIR DE RESIDUOS
DE Coffea arabica, PARA LA PRODUCCIÓN DE UN COAGULANTE NATURAL**

**DANIELA CHACUA MOJICA
MÓNICA ALEJANDRA RODRÍGUEZ MARTÍNEZ**

**Proyecto de investigación para optar por el título de
INGENIERO QUÍMICO**

**Director
DIANA MARCELA CUESTA PARRA
Ingeniera Ambiental**

**Codirector
FELIPE CORREA MAHECHA
Ingeniero Químico**

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ D.C.
2018**

Nota de Aceptación

Presidente del Jurado

Jurado

Jurado

Bogotá, D.C., Marzo 2018

DIRECTIVAS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente de la Universidad y Rector del Claustro

Dr. JAIME POSADA DÍAZ

Vicerrector de Desarrollo y Recursos Humanos

Dr. LUIS JAIME POSADA GARCÍA-PEÑA

Vicerrectora Académica y de Posgrados

Dra. ANA JOSEFA HERRERA VARGAS

Secretario General

Dra. JUAN CARLOS POSADA GARCÍA-PEÑA

Decano Facultad de Ingenierías

Dr. JULIO CESAR FUENTES ARISMENDI

Director de Investigaciones

Ing. ARMANDO FERNÁNDEZ CÁRDENAS

Director Programa de Ingeniería Química

Ing. LEONARDO DE JESÚS HERRERA GUTIÉRREZ

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

DEDICATORIA

A mis padres, Adriana y Ramiro, quienes me aportaron todo para permitirme ser quien soy y alcanzar mis metas, quiero agradecerles el apoyo incondicional que me brindan, sobre todo en los momentos difíciles y ser el pilar principal de mi vida. A mi hermana Paula Andrea, a quien veo como mi más grande ejemplo, por acompañarme, aconsejarme y siempre llenarme de energía positiva para cada cosa que hago; gracias por llenarme de razones para superarme y mostrarme que el esfuerzo y la dedicación son el camino al éxito. Finalmente, a Mónica, por hacer que todo el recorrido hasta aquí fuera una de las mejores experiencias a pesar de los altibajos, porque sin ella nada hubiera sido posible.

Daniela Chacua Mojica

A mis padres que me dieron la vida y la oportunidad de llegar a ser lo que soy hoy en día al formarme como profesional y persona; a ellos y mi hermana que son mi motor, mi ejemplo y mi orgullo para ser una mejor persona. A mis primos y amigos, que siempre me dieron su apoyo incondicional y consejos sinceros, a cada uno de ellos que me incentivó a culminar esta etapa con grandes logros y que ha marcado una parte de mi vida. A la hermana que me dio la vida, con la que termino este proyecto y esta etapa no habría sido igual. A cada uno de ellos les agradezco por estar en mi vida.

Mónica Alejandra Rodríguez Martínez

AGRADECIMIENTOS

A nuestros padres, Adriana, Vianney, Ramiro y Alfonso; por darnos la oportunidad de formarnos como profesionales y brindarnos su amor y cariño incondicional, porque siempre han hecho todo por nosotras y representaron el apoyo más grande a lo largo de este proceso. A Diana Cuesta, más que una profesora, una amiga que siempre nos brindó su ayuda, sus consejos, su mejor actitud y depositó su confianza en nosotras para llevar a cabo esta tarea. A Felipe Correa, por su ayuda en el desarrollo del proyecto, por invitar a retornos cada vez más y demostrar la integridad de un ingeniero químico. Al grupo de investigación en Procesos de Separación no Convencionales GPS, por darnos la oportunidad de pertenecer a esta familia que se apoya y crece junta, animándonos y corrigiéndonos para obtener los mejores resultados. A Ahudrey Leal, por acompañarnos en la fase más importante de nuestro proyecto de investigación; así como a los demás gestores por hacer esta experiencia agradable y enriquecedora. A Tecnicafé por permitirnos evaluar su materia prima y creer en el desarrollo de la investigación. A nuestros familiares y amigos que estuvieron presentes durante este proceso, sin ellos el camino hasta aquí no hubiera sido lo mismo.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	20
OBJETIVOS	22
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	23
1.1 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	23
1.2 JUSTIFICACIÓN	24
1.3 ANTECEDENTES	25
2. MARCO TEORICO	27
2.1 CAFÉ	27
2.1.1 Coffea arabica.	28
2.1.2 Café verde.	29
2.2 RESIDUOS DE CAFÉ	30
2.2.1 Descripción.	30
2.2.2 Tipo de residuos.	31
2.3 POLIFENOLES	32
2.3.1 Polifenoles en café.	34
2.4 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN	36
2.4.1 Extracción asistida por ultrasonido.	38
2.5 AGUA	39
2.5.1 Propiedades generales.	40
2.5.2 Contaminación del agua.	41
2.5.3 Calidad del agua.	42
2.5.3.1 Turbidez.	42
2.5.3.2 Color.	43
2.5.3.3 Olor y sabor.	43
2.5.3.4 DBO.	43
2.5.3.5 DQO.	43
2.5.3.6 Criterios químicos.	43
2.6 PROCESOS DE TRATAMIENTO DE AGUA	44
2.6.1 Coagulación.	45
2.6.1.1 Mecanismos de coagulación.	45
2.7 COAGULANTES	46
2.7.1 Coagulantes naturales.	47
3. MATERIALES Y MÉTODOS	48
3.1 MATERIA PRIMA	48
3.1.1 Café verde.	48
3.1.2 Polifenoles.	50
3.1.3 Agua Patrón.	51
3.2 MÉTODOS	51

3.2.1	Extracción asistida por ultrasonido.	51
3.2.2	Cuantificación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu.	52
3.2.2.1	Interferencias del método.	53
3.2.3	Diseño de experimentos.	53
3.2.4	Test de jarras.	55
3.2.5	Método nefelométrico de turbidez.	56
3.2.6	Actividad coagulante y porcentaje de remoción.	57
3.2.7	Ensayo coagulante metálico.	57
4.	EXTRACCIÓN DE POLIFENOLES	58
4.1	DETERMINACIÓN DE HUMEDAD	58
4.2	EXTRACCIÓN	61
4.2.1	Preparación de la muestra.	62
4.2.2	Pre experimentación.	62
4.2.2.1	Extracción por ultrasonido.	62
4.2.2.2	Filtración de la muestra.	64
4.2.2.3	Determinación de sólidos totales.	64
4.2.2.4	Recuperación del solvente.	65
4.2.2.5	Caracterización de la muestra.	66
5.	DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD COAGULANTE	70
5.1	PRE EXPERIMENTACIÓN	70
5.1.1	Preparación del agua patrón.	70
5.1.2	Control y ajuste del pH.	70
5.2	DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD COAGULANTE	72
5.2.1	Dosificación del coagulante.	72
5.3	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	72
5.4	ANÁLISIS DE RESULTADOS	73
5.5	COMPARACIÓN DE LA TURBIDEZ RESULTANTE CON LA NORMATIVA	76
5.6	COMPARACIÓN DEL COAGULANTE NATURAL CON EL COAGULANTE METÁLICO	76
6.	COMPARACIÓN DE COSTOS	78
7.	CONCLUSIONES	81
8.	RECOMENDACIONES	83
	BIBLIOGRAFÍA	84

LISTA DE TABLAS

	pág
Tabla 1. Fenoles y polifenoles presentes en las partes del fruto de café	35
Tabla 2. Extracción con etanol en disolución 50/50 en subproductos del café	37
Tabla 3. Valores permisibles según la Resolución 2115 de 2007	44
Tabla 4. Matriz de selección de la especie de café	49
Tabla 5. Porcentaje CGA según el grado de madurez	50
Tabla 6. Diseño de experimentos para el Test de jarras	54
Tabla 7. Estadística del porcentaje de humedad	59
Tabla 8. Porcentaje de humedad	61
Tabla 9. Combinaciones del proceso de extracción (Fase I)	62
Tabla 10. Sólidos Totales del Sobrenadante y el precipitado.	64
Tabla 11. Condiciones de operación del rotoevaporador	65
Tabla 12. Condiciones de operación del rotoevaporador	65
Tabla 13. Diluciones y absorbancia de ácido gálico	66
Tabla 14. Absorbancia de las muestras	66
Tabla 15. Recuento bibliográfico	68
Tabla 16. Turbidez final	72
Tabla 17. Porcentajes remoción de turbidez para cada experimento	74
Tabla 18. Actividad coagulante	74
Tabla 19. % Remoción	75
Tabla 20. Resultados coagulante metálico	77

LISTA DE GRÁFICAS

	pág
Gráfica 1. Porcentaje de Humedad vs Tiempo	60
Gráfica 2. Porcentaje de humedad vs Tiempo (Experimento II)	60
Gráfica 3. Porcentaje de humedad vs Tiempo (Experimento III)	61
Gráfica 4. Curva de calibración pre experimentación	67

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Morfología del fruto de café	28
Figura 2. Planta Coffea arabica	29
Figura 3. Café verde	29
Figura 4. Proceso primario del procesamiento del café	31
Figura 5. Clasificación de los polifenoles según su estructura	33
Figura 6. Colapso de la burbuja de cavitación en la superficie de la matriz sólida	38
Figura 7. Equipos industriales para extracción por ultrasonido	39
Figura 8. Doble capa eléctrica	46
Figura 9. Polímeros naturales	47
Figura 10. Muestra de café verde	48
Figura 11. Reacción entre Ácido gálico y el reactivo FC	52
Figura 12. Equipo para el Test de Jarras	55
Figura 13. Molino de cuchillas	58
Figura 14. Cápsulas listas para secado	59
Figura 15. Baño ultrasónico	63
Figura 16. Montaje de filtración	64
Figura 17. Montaje pre experimentación	71
Figura 18. Sedimentación	71
Figura 19. Tabla ANOVA para los resultados de reducción de Turbidez	73
Figura 20. Test de jarras 75%	75
Figura 21. Precio de venta	79
Figura 22. Precio de venta del coagulante metálico	80

LISTA DE ECUACIONES

	pág.
Ecuación 1. Índice de remoción de turbidez.	57
Ecuación 2. Actividad coagulante	57
Ecuación 3. mg GAE/ g muestra en base seca	68
Ecuación 4. Determinación del costo bruto del coagulante	79
Ecuación 5. Precio de venta	79

ABREVIATURAS

°C	Grados Celsius
AA	Experimento agua, acetona
AAA	Experimento agua, acetona, ácido acético
BS	Base seca
Cal	Calorías
CGA	Concentración de ácidos clorogénicos
EA	Experimento etanol, agua
EAA	Experimento etanol, agua, ácido acético
FC	Folin Ciocalteu
g	Gramos
G.L.	Grados de libertad
GAE	Equivalentes de ácido gálico
H_0	Hipótesis nula
H_1	Hipótesis aceptable
ICO	International coffee organization
IR	Infrarrojo
J	Jules
K	Número de niveles del factor A
kDa	kilos Daltons
kg	kilogramos
kHz	kilo Hertz
l	litros
m.s.n.m	Metros sobre el nivel del mar
m ²	metros cuadrados
mHz	Mega Hertz
mM	milimolar
Mo(V)	Molibdato 5
MPa	Mega Pascales
MS	Media de cuadrados
N	Newtons
n	Número de datos
nm	nanómetros
NTU	Unidades nefelométricas de turbidez
PAC	Policloruro de aluminio
ppm	Partes por millón
PPO	Polifenolenol oxidasa
r	Número de niveles del factor B
R	Réplica
s	segundos
SS _A	Suma de cuadrados del factor A
SS _{AB}	Suma de cuadrados de la interacción de los factores A y B
SS _B	Suma de cuadrados del factor B
SS _{Dentro}	Suma de cuadrados residuales

SST
 μM

Suma de cuadrados totales
micromolar

GLOSARIO

ÁCIDOS CLOROGÉNICOS: también identificados por las siglas CGA, son taninos condensados y una clase de fenoles, los cuales se caracterizan por poseer un enlace de tipo éster formado por un ácido hidroxicianámico y el ácido quínico.

AGUA: es el compuesto químico más abundante en el mundo y el más importante para organismo, Es un líquido incoloro, insípido e inodoro.

AGUA SINTÉTICA: agua destilada modificada a nivel laboratorio, agregando caolín para determinar la reducción de turbidez del coagulante a probar.

CAFÉ VERDE: es la almendra o semilla del fruto del café, que luego será procesado para producir la bebida.

CAFÉ: el café es una de las bebidas más importantes a nivel mundial, proviene del cafeto, una planta tropical que puede llegar a los 10 metros de longitud de hoja perenne con un tallo prominente vertical y raíces poco profundas

COAGULACIÓN: es la desestabilización de partículas por adición de compuestos apropiados, para la remoción de material disuelto y formar un precipitado con estas partículas, es uno de los procesos más importantes en el tratamiento del agua, ya que remueve grandes cantidades de material tanto orgánico como inorgánico disueltos en el agua.

COAGULANTES: es una sustancia utilizada en el proceso de coagulación, puede ser química o de origen natural. Su función es desestabilizar las partículas contaminantes para facilitar la remoción de las mismas.

COFFEA ARABICA: especie de café, denominada café suave, es de las especies mayormente cultivadas en el territorio colombiano y más antiguo globalmente para la producción de la bebida comercial. El árbol puede alcanzar hasta los 20 metros de altura, entre la especie se pueden encontrar diferentes variaciones genéticas para obtener una mejor calidad en el aroma y sabor.

EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO: método de extracción por solventes, como operación unitaria consiste en disolver un componente que forma parte de un sólido con un solvente adecuado, siendo éste insoluble con el resto del sólido conocido.

FLOCULACIÓN: es la agregación de las partículas, que su superficie eléctrica fue reducida o desestabilizada; y productos de precipitación desarrollados por la adición de coagulantes que formaron partículas más grandes, denominadas "floc".

LIMO: sedimento de tierra y nutrientes, producida en el suelo por la lluvia, puede estar formada por arena fina y entorno

MÉTODO NEFELOMÉTRICO: es aplicado para determinar la turbidez en el agua, por la precisión, sensibilidad y fácil aplicabilidad. Se basa en la comparación de la intensidad de la luz dispersada por la muestra caracterizada y la dispersada por una

solución patrón, donde a mayor intensidad de la luz dispersa, la turbidez será más intensa

MUCÍLAGO: parte del fruto del café, específicamente de la pulpa, es una capa gelatinosa.

PIEL PLATEADA: es una de las capas que recubre el grano de café, está adherido a la semilla.

POLIFENOLES: son micronutrientes presentes en la dieta humana, ya que a su vez son metabolitos secundarios de plantas comestibles, están relacionados con la defensa contra de la radiación ultravioleta o agresión por patógenos, en otras palabras, en condiciones de estrés.

TEST DE JARRAS: procedimiento para la simulación a escala laboratorio de la coagulación y floculación en el tratamiento de agua, se realiza para indicar la concentración óptima del coagulante y anticipar las condiciones de operación.

TURBIDEZ: propiedad óptica de una suspensión que hace que la luz incidente sea reemitida y no transmitida a través de ella; representa la relación entre la luz incidente y la sustancia diseminante.

ULTRASONIDO: vibración mecánica, caracterizada por su alto rango de frecuencia.

RESUMEN

El tratamiento primario de aguas consiste en 3 etapas: coagulación, floculación y sedimentación. Si bien es cierto que todas las etapas representan un nivel de importancia alto, de la primera dependen las siguientes dos. Para llevar a cabo la coagulación, es requerido el uso de un coagulante que puede ser de origen químico o natural.

La búsqueda de compuestos naturales que suplanten a los coagulantes químicos fue el objetivo del proyecto de investigación. Fueron probados los polifenoles extraídos de residuos de *Coffea arabica*, en una muestra de agua sintética con una turbidez de 520.90 NTU, los polifenoles se extrajeron mediante la técnica por ultrasonido durante 60 minutos y 40KHz; siguiendo el método de cuantificación de Folin Ciocalteu se determinó una concentración final de polifenoles de 100%. Para probar la eficiencia de los polifenoles como coagulante, un test de jarras fue realizado, siguiendo el diseño de experimentos multifactorial 4^2 planteado; tomando como factores la concentración de polifenoles y el pH, cada uno con 4 niveles. Agregando una dosis con una concentración de L 75% y un pH ácido se obtuvo un porcentaje de remoción del 99.94% y una actividad coagulante de 99.93%. Adicionalmente, se comparó la efectividad del coagulante natural frente a la del sulfato de aluminio, un coagulante comercial; se obtuvo que, al realizar el test de jarras a una concentración de 60 g/l de sulfato de aluminio en 500ml de la misma muestra de agua a un pH ácido, la actividad coagulante es un 1.35% menor que la del coagulante natural.

Finalmente, se determinó el precio de venta de un litro de polifenoles a nivel laboratorio, el cual fue comparado con el precio de un litro de sulfato de aluminio a la concentración antes mencionada. El precio de venta del coagulante natural fue de \$264,575 y al compararla con el coagulante metálico excedió en \$169,543; esto se explica en el proceso de producción, ya que el natural fue realizado con equipos de laboratorio, a diferencia del sulfato de aluminio que cuenta con una producción industrializada.

PALABRAS CLAVES: Polifenoles, Coagulantes naturales, Extracción ultrasonido, Turbidez

ABSTRACT

Primary water treatment consists in 3 stages: coagulation, flocculation and sedimentation. While it is true that the three of them are important, the second and third stages depend on the first one. For coagulation process to occur, the use of a coagulant is needed and it can be chemical or natural.

The research of natural compounds that supersede chemical coagulants was the investigation project main objective. Polyphenols extracted from *Coffea arabica* were tested on synthetic water with a turbidity of 520.90 NTU; polyphenols were extracted by ultrasound technique for 60 minutes and 40KHz; extract was quantified by Folin Ciocalteu method, throwing a concentration of 100%. To prove the extracted polyphenols efficiency as coagulants, a jar test was made, following a multifactorial experiments design 4^2 ; polyphenols concentration and water pH were the factors, each one with 4 levels. With a 75% doses and an acid pH the turbidity removal percentage was 99.94% and the coagulant activity 99.93%. Additionally, natural coagulant effectiveness was compared versus aluminum sulphate, a commercial coagulant; when performing the jar test at a concentration of 60 g/l of aluminum sulphate in 500 ml of the same water sample at acid pH, the coagulant activity was 1.35% lower than the natural coagulant activity.

Finally, the sale price of a litre of polyphenols at laboratory level was determined, which was compared with the sale price of one litre of aluminum sulphate with a concentration of 60 g/l. Natural coagulant sale price was \$264,575 and when it was compared with metallic coagulant it exceeded the price; this can be explained in the production process, since the natural coagulant was made with laboratory equipment, unlike aluminum sulphate that count with industrial production.

KEY WORDS: Polyphenols, Natural Coagulants, Ultrasound Extraction, Turbidity

INTRODUCCIÓN

El agua es un recurso natural esencial para la vida, el medio ambiente y el desarrollo; desafortunadamente no todos tienen acceso a una fuente de agua potable, lo cual produce enfermedades como diarrea, malaria y esquistosomiasis.

Aunque el agua es el elemento que se encuentra en mayor cantidad en la tierra, solamente el 2.53% del total es agua dulce y dos tercios de este porcentaje se encuentran en glaciares o como nieves perpetuas¹; es por esto que el tratamiento del agua contaminada representa un proceso esencial para el abastecimiento de agua, principalmente para aquellas personas que no poseen acceso a ella.

En Colombia, según un estudio realizado por el Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, el 44% de la población rural cuenta con abastecimiento de agua, no obstante, no cuentan con procedimientos para potabilizarla. Si se implementaran sistemas de potabilización, el proceso de coagulación sería esencial ya que de él dependen los procesos siguientes como floculación y sedimentación, dentro del tratamiento primario.

La coagulación permite que las partículas suspendidas en el agua sean desestabilizadas para facilitar su remoción; para lograr este proceso se añaden sustancias químicas o naturales llamadas coagulantes, no obstante, en la industria se utilizan primariamente coagulantes de origen químico como el sulfato de aluminio; ésta sustancia genera lodos cuyo tratamiento posterior es complicado², situación que se presenta en general con los coagulantes metálicos, además de poseer una relación con el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer³.

La implementación de coagulantes diferentes a los metálicos es foco de estudio para los investigadores; la búsqueda de sustancias naturales resulta importante ya que existen grandes cantidades de residuos que podrían ser utilizados como materia prima, disminuyendo costos y aprovechando aquello que no se usa, otorgándoles un valor agregado.

Colombia es un país productor de café, si bien esto trae muchos beneficios al país, también representa una fuente de problemas ambientales y contaminación, razón por la cual se han utilizado los residuos para la producción de biogás, abono, extracción de cafeína, enzimas y proteínas⁴. Otra alternativa consiste en aprovechar

¹ FERNÁNDEZ JÁUREGUI, C. Encuentros sobre el agua. UNESCO ed. España: 2004; 4-14.

² GUZMÁN, L., VILLABONA, Á., TEJADA, C., & GARCÍA, R. (2013). Reducción de la turbidez del agua usando coagulantes naturales: Una revisión. U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica. 16(1):253-262.

³ FLATEN, T. P. Aluminium as a risk factor in alzheimer's disease, with emphasis on drinking water. (2001). Brain Research Bulletin. 55(2):187-196. doi: PubMed.

⁴ RATHINAVELU, R., & GRAZIOSI, G. (2005). Posibles usos alternativos de los residuos y subproductos del café. *Organización Internacional del Café*.

los compuestos polifenólicos presentes en el café, para la producción de un coagulante natural capaz de remover la turbidez en el agua contaminada, que posteriormente pueda ser sometida a procesos de potabilización.

Es por esto que el semillero de investigación en Procesos de Separación no Convencionales (GPS) de la Fundación Universidad de América pretende extraer efectivamente los polifenoles de residuos de café para que sean probados como coagulantes en una muestra de agua preparada en el laboratorio, para que, más adelante, puedan ser evaluados en una muestra de agua natural.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar los polifenoles extraídos de los residuos de *Coffea arabica*, para la producción de un coagulante natural.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la acción coagulante de los polifenoles extraídos del café en el tratamiento de agua sintética a nivel laboratorio mediante análisis turbidimétrico.
- Comparar la acción coagulante de los polifenoles extraídos con la presentada por coagulantes metálicos a nivel laboratorio.
- Realizar un análisis de costos entre los coagulantes comerciales y el coagulante natural obtenido a partir de los polifenoles extraídos del café.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

El agua es uno de los recursos vitales para el ser humano, debe cumplir ciertos estándares y niveles permitidos en cuanto a sus características, tanto químicas como físicas, para que sea consumible. Como bien es cierto, el agua no es totalmente pura, ya que presenta sustancias en suspensión o solución. El tratamiento de agua, hoy en día, se encarga de mejorar estéticamente sus características, como el sabor, el color y el olor, a su vez previniendo enfermedades⁵.

En la eliminación de las partículas orgánicas e inorgánicas se realiza un proceso de tratamiento de coagulación, floculación y sedimentación, donde en estas dos primeras etapas se utilizan generalmente agentes químicos que permiten que dicho tratamiento sea eficaz. En la coagulación el sulfato de aluminio y el hidroxicloriguro de aluminio (PAC) son los coagulantes con mayor acogida, logrando del 90-99% de remoción microbiológica⁶. Sin embargo, al contener aluminio, producen grandes cantidades de lodo que resultan difíciles de manejar, reducen el pH del agua tratada y poseen baja eficiencia en la coagulación en agua fría. Por otra parte, según Sanghi, se ha comprobado que la presencia de aluminio en el agua puede llegar a causar la enfermedad de Alzheimer además de poseer un alto costo de adquisición⁷.

Para minimizar tales inconvenientes, los coagulantes naturales que se extraen de la vida vegetal son alternativas viables, puesto que son biodegradables y seguros para la salud humana, resultan menos costosos, renovables, disponibles localmente y fácilmente implementables.

Coffea arabica es la principal especie para el cultivo del café y de mayor antigüedad en la agricultura, porque cuenta con características de mayor calidad en cada taza en cuanto a su aroma y menor acidez. Según la Organización Internacional del Café, Colombia es el tercer productor mundial de café, no obstante, sólo se utiliza el 5% del peso del fruto fresco y el 95% queda en forma de residuo, teniendo en cuenta

⁵ CRITTENDEN, J. C., HAND, D. W., HOWE, K. J., TCHOBANOGLIOUS, G., & TRUSSELL, R. R. (2012). *MWH's water treatment* (3. Aufl. ed.) Wiley.

⁶ MILLER, S., FUGATE, E., CRAVER, V., SMITH, J. A., & ZIMMERMAN, J. B. (2008). Toward understanding the efficacy and mechanism of opuntia spp. as a natural coagulant for potential application in water treatment. *Environmental Science & Technology*, 42(12), 4274-4279. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18605544>

⁷ SANGHI, R., BHATTACHARYA, B., & SINGH, V. (2002). Cassia angustifolia seed gum as an effective natural coagulant for decolourisation of dye solutions. *Green Chemistry*, 4(3), 252-254. doi:10.1039/b200067a

que anualmente se producen diez millones de toneladas aproximadamente⁸. En tales residuos se encuentran subproductos valiosos, que en su composición poseen proteínas, antioxidantes, nutrientes, fibras, lípidos carbohidratos, pectinas y polifenoles⁹. Los últimos mencionados, se han tenido en cuenta en estudios para la etapa de coagulación en el tratamiento de agua, los cuales son extraídos de la vida vegetal, como especies de cactus, semillas, legumbres, entre otros.^{10, 11,12, 13}

El grupo de investigación en Procesos de Separación no Convencionales (GPS) tiene interés en la extracción de los polifenoles utilizando un método de separación específico estudiado por Aponte y Palomino¹⁴, en la fase I del proyecto, para así evaluar su aplicabilidad como coagulante natural en la fase II.

De acuerdo con lo anterior, se plantea la siguiente pregunta principal:

¿Los polifenoles extraídos de los residuos del café sirven como coagulantes naturales?

Para solucionar el problema principal de este trabajo es necesario responder las siguientes preguntas secundarias:

¿Cuál es el método adecuado para determinar la actividad coagulante?

¿Es comparable la acción coagulante con la de un coagulante metálico?

¿El coagulante natural resulta más económico que los coagulantes sintéticos del mercado?

1.2 JUSTIFICACIÓN

El desarrollo de la investigación surge como una respuesta alternativa a los coagulantes metálicos utilizados actualmente, con el fin de disminuir las

⁸ CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ (2016) Manejo de Subproductos. En línea http://www.cenicafe.org/es/index.php/cultivemos_cafe/manejo_de_subproductos/cultivemos_cafe_manejo_de_subproductos

⁹ GALANAKIS, C. M. (2017). *Handbook of coffee processing by-products*. US: Academic Press.

¹⁰ GUZMÁN, L., VILLABONA, Á., TEJADA, C., & GARCÍA, R. Op. cit.; p. 253-262

¹¹ MILLER, S., FUGATE, E., CRAVER, V. O., SMITH, J. A., & ZIMMERMAN, J. B. (2008). Op. cit.; p. 4274-4279

¹² OKUDA, T., BAES, A. U., NISHIJIMA, W., OKADA, M. Improvement of extraction method of coagulation active components from moringa oleifera seed. *Water Research*. 1999;33(15):3373-3378. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135499000469>. doi: 10.1016/S0043-1354(99)00046-9.

¹³ RODRIGUEZ, J. P., LUGO, U., ROJAS, A. V., & MALAVER, C. (2007). Evaluación del proceso de la coagulación para el diseño de una planta potabilizadora. *Umbral Científico*, (11) Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30401102>

¹⁴ APONTE, C., PALOMINO, M. (2017). *Separación de polifenoles a partir de los residuos de café para evaluar su aplicabilidad como parte de un coagulante*. Fundación Universidad de América de Bogotá.

repercusiones negativas que estos traen, haciendo uso de los frutos verdes o no maduros de café pertenecientes a la especie *Coffea arabica*, residuos que no cuentan con un uso específico en el sector agrícola, generados en gran cantidad puesto que no pasan por los estándares de selección de calidad; que además su uso como alimento para el ganado está restringido por el alto contenido de humedad y composición química¹⁵. Éste subproducto del café posee en su composición polifenoles, que podrán ser evaluables para su aplicación en el tratamiento de aguas.

La relevancia del proyecto es trascendental en varios niveles. Como ya se ha establecido anteriormente, y según algunas investigaciones, la adquisición de coagulantes sintéticos en algunos países en desarrollo resulta costosa y en ocasiones ilegal¹⁶ a su vez, la implementación de tales técnicas requiere de personal especializado que no siempre se encuentra disponible. Por otra parte, el nivel de aluminio en el agua tratada puede ser causal de enfermedades como el Alzheimer; adicionalmente, los lodos producto del tratamiento de aguas presentan mayores complicaciones en su manejo. Considerando la aplicación de conocimientos adquiridos en el desarrollo del programa académico de ingeniería química, es posible plantear una alternativa donde inicialmente se haga uso de nuevas tecnologías de extracción, como lo es la extracción asistida por ultrasonido y en segunda instancia que el extracto generado satisfaga la problemática presentada por el uso de coagulantes sintéticos, para poder producir un coagulante de menor costo y mayor asequibilidad.

Teniendo en cuenta lo anterior, el papel del ingeniero químico es imprescindible para solventar la producción del coagulante natural, en vista de que es el único con las bases teórico – prácticas para extraer, modificar y poner en uso el coagulante para que sea efectivo en el tratamiento de aguas residuales, conociendo el comportamiento que este debe tener.

1.3 ANTECEDENTES

- APONTE, C., PALOMINO, M. *Separación de polifenoles a partir de los residuos de café para evaluar su aplicabilidad como parte de un coagulante*. 2017. Fundación Universidad de América de Bogotá.

Este proyecto de investigación constituyó la primera fase, cuyo objetivo principal fue determinar las condiciones de extracción de polifenoles de los residuos de *Coffea arabica*. Según los investigadores, ésta especie cumplía satisfactoriamente con los criterios evaluados en una matriz de selección, dentro

¹⁵ FRANCA, A. S., OLIVEIRA, L. S., & FERREIRA, M. E. (2009). Kinetics and equilibrium studies of methylene blue adsorption by spent coffee grounds. *Desalination*, 249(1), 267-272. doi:10.1016/j.desal.2008.11.017

¹⁶ SANGHI, R., BHATTACHARYA, B., & SINGH, V. Op. cit.; p. 267-272

de los cuales estaban la concentración de ácidos clorogénicos, el tipo de residuo, la disponibilidad del residuo y la concentración de flavonoides. Adicionalmente, el porcentaje de ácidos clorogénicos fue evaluado según el grado de maduración del café, demostrando que el café verde presentaba un mayor valor en comparación con el pintón, el maduro y el sobre maduro; clasificación otorgada por su densidad y colorimetría.

En cuanto a los métodos de extracción, tomaron en cuenta el tiempo, la disponibilidad de equipos, la disponibilidad de reactivos y el costo como criterios de selección, resultando el método Soxhlet elegido. Sin embargo, al realizar la pre experimentación fue producido metano, presentando un peligro alarmante. El criterio de peligrosidad fue entonces incluido en la matriz de selección resultando la extracción asistida por ultrasonido el método predilecto. Fueron probados 4 solventes para la separación de polifenoles, etanol, acetona, metanol e isopropanol, pero tomando en cuenta el porcentaje de recuperación, el tiempo de recuperación y la concentración obtenida fue escogida la acetona como solvente.

La mayor concentración dentro de los experimentos realizados fue de 43 mg GAE/ 100ml, sin agitación y con un tiempo de extracción de 60 minutos. Esto fue posible determinarlo mediante el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu. Finalmente, al realizar la conversión concluyeron que la concentración en base seca fue de 12.137 mg GAE/ g de muestra.

2. MARCO TEORICO

2.1 CAFÉ

El café es una de las bebidas más importantes a nivel mundial, ya que es una de las principales mercancías de comercialización en el mundo, después del petróleo¹⁷. La Organización Internacional de café reportó que son consumidas 2250 millones de tazas de café en todo el mundo a diario¹⁸, así mismo, la ICO posiciona a Colombia como el tercer productor a nivel mundial y el segundo a nivel Latinoamérica después de Brasil¹⁹. Según la Federación Nacional de cafeteros²⁰, en Colombia actualmente son cultivadas 931750 hectáreas de café, esto se debe a que el café es una de las bebidas más populares globalmente; produciendo 153.869.000 de bultos de 60kg a nivel mundial²¹.

El cafeto o planta productora de café es una planta tropical, perteneciente a la familia de las Rubiáceas, que tiene hojas oscuras y brillantes, que produce una flor blanca de agradable aroma; los frutos maduros son de color rojo, puesto que existen diferentes variedades, el color de los frutos cambia a naranja, rosa o amarillo, y se les denomina “cerezas”^{22, 23}.

Dentro del fruto se encuentran las semillas, que luego de un proceso de tostión y molienda son utilizadas para el consumo humano^{24,25}, en la morfología del fruto se encuentra una capa externa (exocarpo), enseguida hay una capa mucilaginoso de tejido esponjoso y rico en azúcares (mesocarpo) que recubre los dos granos, que a su vez están protegidos por una doble membrana, el endocarpo o pergamino es una capa dura y frágil; por último la película plateada o endosperma, es una capa fina y está adherida al grano²⁶, como se muestra en la figura 1.

¹⁷ ZUORRO, A., & LAVECCHIA, R. (2012). Spent coffee grounds as a valuable source of phenolic compounds and bioenergy. *Journal of Cleaner Production*, 34, 49-56. doi:10.1016/j.jclepro.2011.12.003

¹⁸ LOPEZ, D. (2014). *Composición química y nutracéutica del residuo sólido del café (coffea arabica L) utilizado y la actividad de los productos de su fermentación colónica in vitro en un modelo de inflamación* Universidad Autónoma de Querétaro.

¹⁹ International Coffee Organization. (2017) Total production by all exporting countries. En línea <http://www.ico.org/prices/po-production.pdf>

²⁰ Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. Área cultivada.

²¹ International Coffee Organization. (2017). Trade statistics tables. Retrieved from http://www.ico.org/trade_statistics.asp

²² PUERTA, G., Cenicafe. Composición química de una taza de café. *Avances tecnológicos*. 2011;414. <http://www.cenicafe.org>.

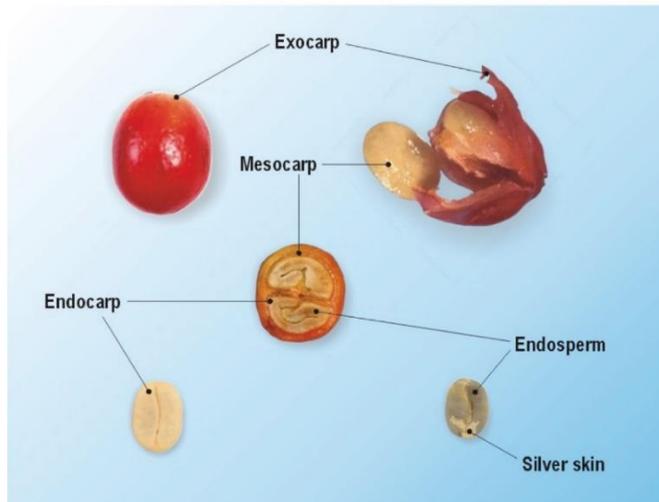
²³ ARCILA, J. (2011). Crecimiento y desarrollo de la planta de café. *Sistemas de producción de café, crecimiento y desarrollo de la planta de café*

²⁴ STEIMAN, S., MORRIS, J., & THURSTON, R. W. (2013). *Coffee: A comprehensive guide to the bean, the beverage, and the industry*. Lanham, Md: Rowman & Littlefield Publishers.

²⁵ Federación Nacional de Cafeteros. El árbol y el entorno. Retrieved from http://www.cafedecolombia.com/particulares/es/sobre_el_cafe/el_cafe/el_arbol_y_el_entorno

²⁶ ARCILA, J. Op. cit.

Figura 1. Morfología del fruto de café



Fuente: Café de Colombia. El árbol y el entorno. http://www.cafedecolombia.com/particulares/e/s/sobre_el_cafe/el_cafe/el_arbol_y_el_entorno. Recuperado el 11 de noviembre de 2017.

2.1.1 Coffea arabica. Comercialmente existen varias especies de café. Dentro del tratado mundial de café, para la comercialización los dos principales géneros son la *Coffea canephora* y *Coffea arabica*, denominadas Robusta y Arábica, respectivamente²⁷.

La Arábica, constituye más del 60% del café que se comercializa en el mercado y se cultiva a una temperatura entre 18 y 23 °C; en Colombia las plantaciones están concentradas en altitudes entre los 1200 y 1800 m.s.n.m.. Las variedades de *Coffea arabica* cultivadas en el país son: Colombia y Castillo, Catuaí, Caturra, Mundo Nodo, Bourbon, Pache, Typica o arábigo (Criollo), Maragogipe, Geisha y Pacamara²⁸.

A diferencia de la especie Robusta, el grano de *Coffea arabica* es más grande²⁹, además, tiene una calidad superior en cuanto a la taza de café, sus características organolépticas se pueden apreciar más, el contenido de sólidos disueltos es menor y es más vulnerable a plagas y enfermedades.

²⁷ GALANAKIS, C. M. Op. cit.

²⁸ GARCÍA, A. (2016). *Marco conceptual sobre la influencia de la temperatura y la humedad relativa en la fermentación sólida del grano de café arábica sobre el contenido de ácido 5-o-cafeoilquínico*

²⁹ GALANAKIS, C. M. Op. cit.

Figura 2. Planta Coffea arabica



Fuente: Coffee grinder information & reviews. En línea <http://knowyourgrinder.com/the-coffee-arabica-plant/>. Recuperado el 11 de noviembre de 2017.

2.1.2 Café verde. La almendra o grano, también denominado café verde, no tiene sabor o aroma propio³⁰, principalmente está constituido por lípidos y sacarosa, otros compuestos químicos presentes en el café verde de Coffea arabica son polisacáridos, azúcares reductores, proteínas, aminoácidos, cafeína, trigonelina, lípidos, ácidos alifáticos, ácidos clorogénicos, minerales, compuestos nitrogenados y unas trazas de compuestos aromáticos³¹.

Figura 3. Café verde



Fuente: Cenicafé. En línea http://www.cenicafe.org/es/index.php/cultivemos_cafe/comercializacion. Recuperado el 11 de noviembre de 2017.

³⁰ DÍAZ, V. & VÁSQUEZ, E. (2011). Determinación de la composición y la capacidad antioxidante de aceites obtenidos por extracción con CO₂ supercrítico de granos de café con diferente grado de tuestión. Universidad Industrial de Santander.

³¹ PUERTA, G., & Cenicafe. Op. cit.

Así como la mayoría de los tejidos de la planta, el grano posee celulosa y hemicelulosa, carbohidratos solubles que se encargan del aroma, la estabilización de la espuma, aumento de sedimentación y viscosidad en el extracto^{32,33}.

2.2 RESIDUOS DE CAFÉ

2.2.1 Descripción. El proceso de producción de café se puede dividir en dos grandes etapas: en la primera los frutos del café son descascarados y puestos a secar, generándose residuos sólidos como la cáscara, la pulpa de café y granos de baja calidad o defectuosos. En la segunda etapa, se producen los granos tostados y el café soluble, produciendo residuos como el café molido. Las grandes cantidades de residuos se dan por defectos causados por el oscurecimiento, inmadurez, perforación o daño por insectos al grano, que como resultado se consideran una fuente grave de contaminación y problemas ambientales, por la falta de eliminación adecuada^{34, 35}.

Como lo menciona Cenicafé, en el proceso de producción del café, solamente es aprovechado el 5% del peso del fruto fresco para la preparación de la bebida y el 95% sobrante son los residuos orgánicos³⁶, y que durante la década de los años 30 y 40 no existía la preocupación de disponer correctamente de estos residuos, donde 77 millones de sacos de café fueron arrojados al mar, a rellenos sanitario o simplemente quemados³⁷.

³²LOPEZ, D. Op. cit.

³³ CLIFFORD, M. N., & RAMIREZ-MARTINEZ, J. R. (1991). Phenols and caffeine in wet-processed coffee beans and coffee pulp. *Food Chemistry*, 40(1), 35-42. doi:10.1016/0308-8146(91)90017-I

³⁴ GALANAKIS, C. M. Op. cit.

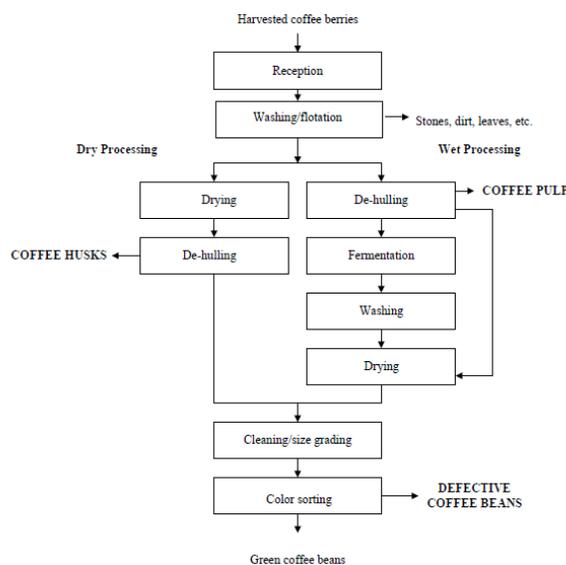
³⁵ FRANCA, A., & OLIVEIRA, L. (2009). *Coffee processing solid wastes: Current uses and future perspectives*. Belo Horizonte, Brasil: Nova Science Publishers.

³⁶ Centro Nacional de Investigaciones de Café. (2016) Manejo de Subproductos. En línea http://www.cenicafe.org/es/index.php/cultivemos_cafe/manejo_de_subproductos/cultivemos_cafe_manejo_de_subproductos

³⁷ LOPEZ, D. Op. cit.

2.2.2 Tipo de residuos. Como ya se mencionó anteriormente, en la primera parte del procesamiento se separa el grano de la pulpa, la cáscara externa y la cáscara pergamino; éstos sólidos, que son los remanentes, están compuestos de piel seca, pulpa y mucílago; la primera representa entre el 7 al 18% en base seca del fruto y la pulpa entre el 40-50% del fruto completo húmedo^{38,39}. Estos sólidos están compuestos de proteínas, lípidos, minerales, carbohidratos, azúcares reducidos, hemicelulosa, celulosa, lignina, cafeína y polifenoles, donde predominan en cantidad los taninos^{40,41}. En la figura 4, se aprecia el proceso primario de producción para obtener los granos verdes de café.

Figura 4. Proceso primario del procesamiento del café



Fuente: Franca, A. 2009. *Chemistry of defective coffee beans*

Otro de los subproductos, es la película plateada o *silverskin* adherida al grano que representa el 0,2% del fruto en base húmeda; es rico en proteína y fibra, posee celulosa, xilosa, galactosa, lípidos, ciertas cantidades de minerales, como el potasio, magnesio azufre, compuestos fenólicos, ciertos niveles de cafeína, entre otros. Este residuo es actualmente implementado como combustible, para el

³⁸ GALANAKIS, C. M. Op. cit.

³⁹ FRANCA, A., & OLIVEIRA, L. Op. cit.

⁴⁰ CLIFFORD, M. N., & RAMIREZ-MARTINEZ, J. R. Op. cit.; p. 35-42.

⁴¹ FRANCA, A., & OLIVEIRA, L. (2008). *Chemistry of defective coffee beans*. Belo Horizonte, Brasil: Nova Science Publishers.

compostaje y la fertilización del suelo; en algunos estudios se quiere implementar este residuo en la industria cosmetológica^{42,43}.

El café molido una vez tratado con agua caliente o vapor para la producción de café instantáneo o de la bebida en locales comerciales, en los hogares o restaurantes, es otro de los residuos que se genera en gran cantidad, dado que el 50% de la producción del café es procesado para hacer café soluble. Este residuo posee compuestos como manosa, galactosa, proteínas, polisacáridos, lípidos, minerales predominantemente el potasio^{44, 45, 46}.

Por otra parte, los granos no maduros y defectuosos son los que caen al suelo en la cosecha; los que tienen defectos como el oscurecimiento del fruto, que fueron picados por insectos o presentan el grano quebrado, también se pueden diferenciar en la etapa de tostadura por el tamaño, el color, los niveles de acidez, sucrosa y presencia de histamina^{47,48,49}. A diferencia de los componentes en la pulpa y la cáscara, los granos defectuosos poseen una mayor cantidad de minerales y niveles de cafeína y bajo contenido en azúcares⁵⁰. Se debe agregar que, los granos no maduros provienen de frutos que no cumplieron con el grado de maduración óptimo; éste es uno de los factores más representativos en la calidad de la cosecha y por consiguiente de la bebida, ya que pueden presentarse sabores amargos, rancios y acidez; en cuanto al tamaño esperado es más pequeño del grano que el de un fruto maduro.⁵¹

2.3 POLIFENOLES

Los polifenoles son un grupo de fitoquímicos presentes en frutas, vegetales y otras plantas, son metabolitos secundarios de las plantas que están involucrados en la protección de la radiación ultravioleta y agresión ante patógenos; una de sus características principales es que cuentan con efectos antioxidantes. Hay que mencionar, además, que al ser implementados en la dieta humana pueden cumplir un papel importante en la prevención de enfermedades degenerativas como el cáncer. El peso de las moléculas varía entre 3000 kDa y grandes compuestos de

⁴² GALANAKIS, C. M. Op. cit.

⁴³ ESQUIVEL, P., & JIMÉNEZ, V. M. (2012). *Functional properties of coffee and coffee by-products* doi://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.05.028

⁴⁴ LOPEZ, D. Op. cit.

⁴⁵ GALANAKIS, C. M. Op. cit.

⁴⁶ ESQUIVEL, P., & JIMÉNEZ, V. M. Op. cit.

⁴⁷ GALANAKIS, C. M. Op. cit.

⁴⁸ FARAH, A., & DONANGELO, C. M. (2006). Phenolic compounds in coffee. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18(1) Retrieved from http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1677-04202006000100003

⁴⁹ MAZZAFERA, P. (1999). Chemical composition of defective coffee beans. *Food Chemistry*, 64(4), 547-554. doi:10.1016/S0308-8146(98)00167-8

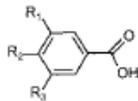
⁵⁰ GALANAKIS, C. M. Op. cit.

⁵¹ ARCILA, J. Op. cit.

20000kDa; cuenta con al menos un grupo hidroxilo unido al anillo aromático y pueden ser clasificados en diferentes grupos por el número de anillos que la estructura tenga o los radicales que estén enlazados a estos anillos. En la figura 5 se aprecia la clasificación de los polifenoles según Manach, donde se pueden observar 6 grupos: ácidos fenólicos, flavonoides, lignanos y etilbenos^{52, 53}.

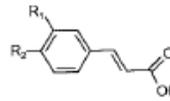
Figura 5. Clasificación de los polifenoles según su estructura

Hydroxybenzoic acids



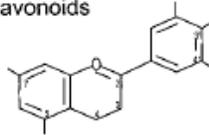
$R_1 = R_2 = \text{OH}, R_3 = \text{H}$: Protocatechuic acid
 $R_1 = R_2 = R_3 = \text{OH}$: Gallic acid

Hydroxycinnamic acids

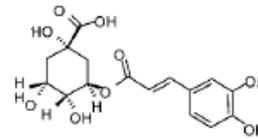


$R_1 = \text{OH}$: Coumaric acid
 $R_1 = R_2 = \text{OH}$: Caffeic acid
 $R_1 = \text{OCH}_3, R_2 = \text{OH}$: Ferulic acid

Flavonoids

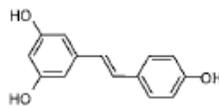


See Figure 2



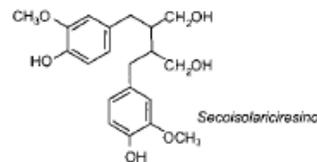
Chlorogenic acid

Stilbenes



Resveratrol

Lignans



Secoisolariciresinol

Fuente: Manach, C. 2004. Polyphenols: Food sources and bioavailability

Los ácidos fenólicos, a su vez están subdivididos, un grupo proviene del ácido cinámico y el otro del benzoico. Los derivados del ácido cinámico son los más comunes, pero son rara vez encontrados en forma libre, a excepción de la comida procesada por congelación, esterilización o fermentación. Como ejemplos están el ácido caféico, el quínico o tartárico; los dos primeros al estar unidos por un enlace éster dan lugar al ácido clorogénico, presente en frutas y altas concentraciones en el café. En cuanto al caféico, es el más abundante en las frutas. Por otra parte, un

⁵² WATSON, R. R. (2014). *Polyphenols in plants: Isolation, purification and extract preparation* (1. ed. ed.). London [u.a.]: Acad. Press.

⁵³ MANACH, C., SCALBERT, A., MORAND, C., RÉMÉSY, C., & JIMÉNEZ, L. (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15113710>

ejemplo de los ácidos hidroxibenzoicos es el ácido gálico, presente en el té y cuenta con la habilidad de donar protones⁵⁴.

En cuanto a los flavonoides, es una de las clases más abundantes en los vegetales y plantas, otro rasgo de esta clase es que cuenta con propiedades antioxidantes y quelantes, así mismo, está relacionado con la coloración de frutos y flores, actuando como pigmento⁵⁵; son compuestos de bajo peso molecular y a su vez se subdividen en otros grupos, como lo son los flavonoles, flavanonas, isoflavonas, antocianinas y flavanoles⁵⁶.

Finalmente, están los lignanos que se encuentran mayormente en semillas oleaginosas, cereales, plantas leguminosas, en vegetales y frutas; están formadas por dos unidades de fenilpropano. Los estilbenos en la dieta humana se encuentran en pequeñas cantidades en el vino y tiene efecto anticancerígeno que ha sido ampliamente estudiado⁵⁷.

2.3.1 Polifenoles en café. El café posee polifenoles en cada una de las partes del fruto, que están relacionados con el aroma, el sabor y el color de la bebida; uno de los polifenoles que se encuentra en una concentración mayor al 10% es el ácido clorogénico, en el grano de café⁵⁸.

Tienen la posibilidad de ser aprovechados como fuente de antioxidantes, nutracéutico, conservante de algunas preparaciones alimenticias⁵⁹, para el tratamiento de enfermedades crónicas degenerativas o neurodegenerativas como el Alzheimer y Parkinson⁶⁰; de igual modo, en otras áreas como la cosmetología y el tratamiento de agua. En la tabla 1, se puede apreciar algunos fenoles y la concentración total en porcentaje de cada residuo.

⁵⁴ WATSON, R. R. Op. cit.

⁵⁵ ESCOBAR, M. (2010) Extracción De Compuestos Fenólicos De Las Cáscaras De Cítricos Producidos En México

⁵⁶ QUIÑONES, M., MIGUEL, M., & ALEIXANDRE, A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular | The polyphenols, naturally occurring compounds with beneficial effects on cardiovascular disease. Retrieved from <http://hdl.handle.net/10261/101372>

⁵⁷ MANACH, C., SCALBERT, A., MORAND, C., RÉMÉSY, C., & JIMÉNEZ, L. Op. cit.

⁵⁸ MULLEN, W., NEMZER, B., STALMACH, A., ALI, S., COMBET, E. Polyphenolic and hydroxycinnamate contents of whole coffee fruits from china, india, and mexico. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2013;61(22):5298. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23650984>.

⁵⁹ FARAH, A., & DONANGELO, C. M. Op. cit.

⁶⁰ LOPEZ, D. Op. cit.

Tabla 1. Fenoles y polifenoles presentes en las partes del fruto de café

Parte del café	Fenoles y Polifenoles presentes	% fenoles totales
Cáscara externa y Mucílago	Taninos Taninos solubles Ácidos clorogénicos Antocianinas Ácido protocatecúico Flavonoles Ácidos hidroxicianímico	1.5±1.5
Granos de café	Ácidos clorogénicos Ácidos hidroxicianímico Ácido cafeico Ácido quínico Antocianinas Glucósidos fenólicos Lignanos Fenoles volátiles	7.95
Cáscara pergamino	No determinado	0.8±0.5
Piel plateada	Taninos Flavonoides Ácidos Hidroxibenzoicos Epicatequina	1.0±2.0
Café tostado usado (SCG)	Ácido cafeico Ácido Clorogénico Ácido Ferúlico Ácido hidroxibenzóico	1.5 ±1.0

Fuente: ESQUIVEL, P., & JIMÉNEZ, V. M. *Functional properties of coffee and coffee by-products*. 2012. doi://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.05.028; FARAH, A., & DONANGELO, C. M. Phenolic compounds in coffee. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 2006. 18(1) Retrieved from http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1677-04202006000100003; GALANAKIS, C. M. *Handbook of coffee processing by-products*. 2017. US: Academic Press; MULLEN, W., NEMZER, B., STALMACH, A., ALI, S., & COMBET, E. Polyphenolic and hydroxycinnamate contents of whole coffee fruits from china, india, and mexico. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013. 61(22), 5298. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23650984>. Modificado por autores.

2.4 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

En el aislamiento de los compuestos bioactivos presentes en las matrices sólidas de los subproductos de café y del café verde, se han estudiado y aplicado técnicas de extracción, convencionales y modernas. La extracción sólido líquido es una de las operaciones unitarias más usadas para la separación, por su rapidez, simplicidad y amplio alcance; se basa en el uso de un solvente que sea miscible en el compuesto deseado, transfiriendo el volumen de la solución a la superficie del sólido para que dicho solvente penetre o se difunda en el sólido transfiriendo el soluto a la solución general. La velocidad con la que se difunde el soluto a través del sólido y el disolvente a la superficie depende de factores como: el tamaño de la partícula, la concentración del disolvente, el tiempo de contacto, el número de extracciones, la proporción sólido disolvente, el tipo de solvente, el compuesto que se desea extraer, entre otros^{61, 62, 63}.

Para obtener los polifenoles naturales, se han estudiado métodos convencionales de extracción, como lo son: la extracción Soxhlet, calentamiento y ebullición, sin embargo, estas técnicas presentan desventajas en cuanto a la cantidad de solvente utilizado, el tiempo de extracción y en algunos casos la pérdida de los polifenoles por los largos tiempos del proceso⁶⁴. Para contrarrestar estas desventajas, nuevas técnicas de extracción han sido desarrolladas, mejorando los rendimientos del proceso y obteniendo productos más puros⁶⁵.

En cuanto a la extracción de polifenoles presentes en los subproductos del café, las nuevas técnicas que se implementan son⁶⁶:

- Extracción con líquidos iónicos
- Extracción con fluidos supercríticos
- Extracción con agua supercrítica
- Extracción por campo eléctrico pulsado
- Extracción asistida por microondas
- Extracción asistida por ultrasonido

Considerando ahora los factores para obtener los compuestos fenólicos de los subproductos de café, la elección del solvente es uno de los más predominantes,

⁶¹ ESCOBAR, M. Op. cit.

⁶² KISLIK, V. S. (2012). *Solvent extraction: Classical and novel approaches*. Amsterdam: Elsevier.

⁶³ GEANKOPLIS, C. J. (1993). *Transport processes and unit operations* (3. ed. ed.). Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall.

⁶⁴ WATSON, R. R. Op. cit.

⁶⁵ CHEMAT, F., ZILL-E-HUMA, & KHAN, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics - Sonochemistry*, 18(4), 813-835. doi:10.1016/j.ultsonch.2010.11.023

⁶⁶ GALANAKIS, C. M. Op. cit.

puesto que los polifenoles son solubles en solventes polares práticos, aquellos que son capaces de estabilizar las cargas formando puentes de hidrógeno;- se caracterizan por la presencia de grupos hidroxilo y una parte alifática en su estructura, permitiendo así la solubilización de productos naturales y disminuyendo la actividad de la enzima polifenol oxidasa⁶⁷, así como lo son las mezclas hidroalcohólicas. Según estudios, la mejor eficiencia de concentración se obtiene usando una solución equimolar con etanol y agua, en el libro Handbook of coffee processing by-products exponen los autores que han realizado las extracciones con esta disolución de alcoholes y diferentes técnicas⁶⁸, mostrado en la tabla 2.

Tabla 2. Extracción con etanol en disolución 50/50 en subproductos del café

Subproducto de Café	Cantidad de Polifenoles (mg GAE/g Café)	Autor
Café molido usado	13.6 ± 5.6	Pascoa
	273.24	Acevedo
	35.52	Panusa ⁶⁹
	2.75 – 17.48	Bravo ⁷⁰
Piel plateada	9.5 – 16.5	Costa ⁷¹
	5.26 – 13.53	Ballesteros ⁷²
Grano completo	16-84	Mullen ⁷³

Fuente: GALANAKIS, C. M. *Handbook of coffee processing by-products*. 2017. US: Academic Press. Modificado por autores.

⁶⁷ ABAD-GARCÍA, B., BERRUETA, L. A., LÓPEZ-MÁRQUEZ, D. M., CRESPO-FERRER, I., GALLO, B., & VICENTE, F. (2007). *Optimization and validation of a methodology based on solvent extraction and liquid chromatography for the simultaneous determination of several polyphenolic families in fruit juices* doi://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.03.023

⁶⁸ GALANAKIS, C. M. Op. cit.

⁶⁹ PANUSA, A., ZUORRO, A., LAVECCHIA, R., MARROSU, G., & PETRUCCI, R. (2013). Recovery of natural antioxidants from spent coffee grounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(17), 4162-4168. doi:10.1021/jf4005719

⁷⁰ BRAVO, J., MONENTE, C., JUÁNIZ, I., DE PEÑA, M. P., & CID, C. (2013). Influence of extraction process on antioxidant capacity of spent coffee. *Food Research International*, 50(2), 610-616. doi:10.1016/j.foodres.2011.04.026

⁷¹ COSTA, A. S. G., ALVES, R. C., VINHA, A. F., BARREIRA, S. V. P., NUNES, M. A., CUNHA, L. M., & OLIVEIRA, M., BEATRIZ, P. P. (2014). Optimization of antioxidants extraction from coffee silverskin, a roasting by-product, having in view a sustainable process. *Industrial Crops and Products*, 53(Supplement C), 350-357. doi:10.1016/j.indcrop.2014.01.006

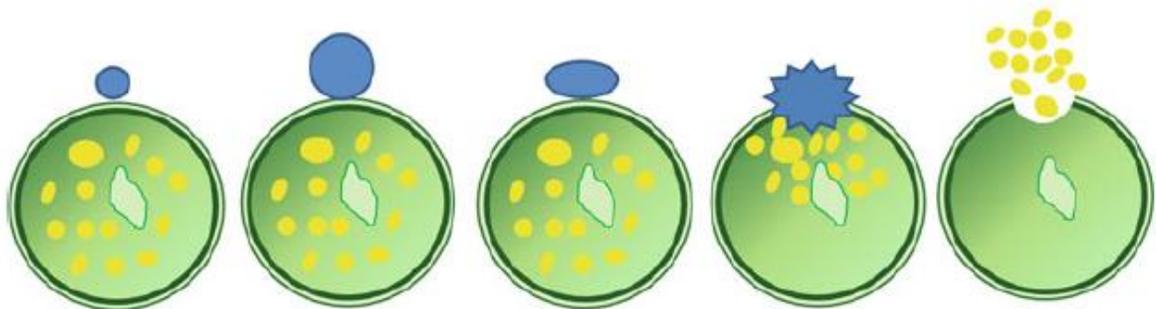
⁷² MUSSATTO, S. I., BALLESTEROS, L. F., MARTINS, S., & TEIXEIRA, J. A. (2011). Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. *Separation and Purification Technology*, 83(Supplement C), 173-179. doi:10.1016/j.seppur.2011.09.036

⁷³ MULLEN, W., NEMZER, B., STALMACH, A., ALI, S., & COMBET, E. (2013). Polyphenolic and hydroxycinnamate contents of whole coffee fruits from china, india, and mexico. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(22), 5298. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23650984>

2.4.1 Extracción asistida por ultrasonido. Es una tecnología que, según Chemat, “puede acelerar la transferencia de masa y calor en la extracción; ha sido usada con éxito en el campo de la extracción”, especialmente en la extracción de productos naturales provenientes de plantas, permitiendo obtenerlos en menor tiempo, reduciendo el consumo de solvente, simplificando la manipulación y la elaboración; así mismo, tiene un efecto significativo otros procesos químicos y en la industria de alimentos⁷⁴.

El principio de esta extracción consiste en el uso de ondas ultrasónicas, que manejan un rango de frecuencia de 20 kHz a 10 MHz y son procedentes de transductores en contacto con el medio líquido; el poder de estas frecuencias induce a la producción de burbujas, por el efecto de cavitación generado, estas burbujas tienen la habilidad de crecer; al alcanzar su diámetro crítico colapsan y liberan grandes cantidades de energía; alcanzando temperaturas de 5000 K y presiones de 20 MPa. El colapso se produce cerca de la superficie de la matriz sólida a la cual se le realiza la extracción, que, por efecto de la alta temperatura y presión alcanzada en la fase de compresión, destruye las paredes de las células del sólido y su contenido es liberado⁷⁵, como se muestra en la figura 6.

Figura 6. Colapso de la burbuja de cavitación en la superficie de la matriz sólida



Fuente: Meullemiestre, A, Chemat, F. (2015). *Modern techniques and solvents for the extraction of microbial oils*

Existen dos equipos para la aplicación del método, el primero es el uso de un baño ultrasónico, que fue el primer equipo usado en sonoquímica, que genera frecuencias entre 25 a 50 kHz, sus principales usos radican en la preparación de muestras, limpieza, homogenización, dispersión sólida. Por otro lado, está la probeta

⁷⁴ CHEMAT, F., ZILL-E-HUMA, & KHAN, M. K. Op. cit.; p. 813-835.

⁷⁵ MEULLEMIESTRE, A., BREIL, C., ABERT-VIAN, M., & CHEMAT, F. (2015). *Modern techniques and solvents for the extraction of microbial oils* (1st ed. 2015 ed.). Cham: Springer. doi:10.1007/978-3-319-22717-7

ultrasonica sumergida directamente en el reactor, permitiendo así una irradiación directa al medio y una presión acústica en gran cantidad⁷⁶.

A nivel industrial, son utilizados los baños con ultrasonido que cuentan con una mayor superficie de radiación y un sistema de agitación incorporado, también pueden ser utilizadas probetas ultrasónicas con un sistema continuo pero el volumen del reactor se verá limitado⁷⁷. En la figura 7 se observan los equipos de ultrasonido utilizados a nivel industrial de diferentes volúmenes.

Figura 7. Equipos industriales para extracción por ultrasonido



Fuente: Meullemiestre, A, Chemat, F. (2015). *Modern techniques and solvents for the extraction of microbial oils*

2.5 AGUA

El agua es el compuesto químico más abundante en el mundo y el más importante para organismo. Se habló por primera vez de su estructura en 1780 por Cavendish y Lavoisier demostrando que estaba compuesta por oxígeno e hidrógeno; más

⁷⁶ MEULLEMIESTRE, A., BREIL, C., ABERT-VIAN, M., & CHEMAT, F. Op. cit.

⁷⁷ Ibid.

adelante, en 1805, Humboldt y Gay-Lussac determinaron la relación de 2 a 1 que existía entre el hidrógeno y el agua, para que finalmente Dumas en 1842 confirmara que la relación entre el peso de estos dos elementos era de 2 a 16⁷⁸.

Es un líquido incoloro, insípido e inodoro, denominado como el solvente universal ya que, al entrar en contacto con una gran variedad de sustancias, es capaz de disolverlas sin importar el estado en que se encuentren, formando iones complejos, coloides o partículas dispersas que varían en su tamaño y peso⁷⁹.

Naturalmente, el agua no se encuentra pura en su totalidad, sin embargo, se le llama agua a cualquier solución y suspensión acuosa como la lluvia, los lagos, los ríos y el mar⁸⁰.

2.5.1 Propiedades generales. La estructura del agua, aunque parezca simple, posee propiedades fisicoquímicas únicas⁸¹. Dentro de las propiedades principales del agua se encuentran:

La polaridad: el agua presenta un momento dipolar permanente explicado por la diferencia de electronegatividades de sus átomos, que puede ser determinado mediante la medición de la constante dieléctrica del vapor para distintas temperaturas⁸².

El calor específico: en general, es la cantidad de calor necesaria para elevar en 1° la temperatura de un gramo de agua; ésta es una de las sustancias con mayor calor específico, requiriendo mucho frío para ser enfriada o mucho calor para ser calentada. Tiene un valor de 1 cal/g °C o 4.186 J/g °C⁸³.

La ionización: es esta propiedad la que le otorga al agua el nombre de disolvente universal. El carácter bipolar del agua impide que las moléculas de una sustancia disuelta en ella permanezcan sin cambios, ya que cada extremo de la molécula del agua atraerá a los átomos de carga opuesta, dando lugar a la disociación iónica⁸⁴.

La tensión superficial y la capilaridad: la desigualdad de las fuerzas de atracción de

⁷⁸ ARBOLEDA VALENCIA, J. (2000). *Teoría y práctica de la purificación del agua* (3rd ed.). Bogotá, Colombia: Mc Graw Hill.

⁷⁹ DE VARGAS, L. (2004). *Tratamiento de agua para consumo humano*. Lima, Perú: Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente.

⁸⁰ ROMERO ROJAS, J. A. (2009). *Calidad del agua* (3rd ed.). Colombia: Editorial Escuela Colombiana de Ingenieros. p. 231-240.

⁸¹ CRITTENDEN, J. C., HAND, D. W., HOWE, K. J., TCHOBANOGLOUS, G., & TRUSSELL, R. R. Op. cit.

⁸² ARBOLEDA VALENCIA, J. Op. cit.

⁸³ ROMERO ROJAS, J. A. Op. cit.; p. 231-240.

⁸⁴ ARBOLEDA VALENCIA, J. Op. cit.

las moléculas de un líquido que se encuentran en contacto con un gas u otro líquido es llamada tensión superficial, y es debido a esta propiedad que se da la capilaridad, que es la propiedad que tiene un líquido a subir por un tubo⁸⁵.

Otras propiedades importantes son:

- Punto de ebullición: 100 °C
- Punto de fusión: 0 °C
- Densidad relativa: 1.0 a 4 °C
- Densidad: 1.0 kg/L a 4 °C
- Peso molecular: 18.016 g/mol
- Viscosidad dinámica: 1.002E-3 N·s/m²
- Viscosidad cinemática: 1.004E-6 m²/s

2.5.2 Contaminación del agua. El agua pura no existe en la naturaleza, ya que siempre estará en contacto con otra superficie que contenga sustancias que puedan entrar en solución o en suspensión. Es necesario remover la materia suspendida, así como las sustancias disueltas que se encuentren por encima de los límites permitidos; todo con miras a determinar la calidad del agua, la cual varía según la necesidad del consumidor o el uso que se le vaya a dar⁸⁶.

Para hablar acerca de la calidad del agua, primero debe entenderse que existen varios tipos de contaminación según el contribuyente:

- Físicos: variación en el color, sabor, olor, turbidez, temperatura.
- Químicos: orgánicos e inorgánicos.
- Biológicos: presencia de microorganismos patógenos⁸⁷.

Adicional a lo anterior, es claro que existe el concepto de agua segura y agua potable. La primera se refiere a la sustancia que no representa ningún riesgo para el consumidor si es ingerida, mientras que el agua potable, además de ser segura para el consumo, satisface criterios físicos, químicos y biológicos⁸⁸.

⁸⁵ OJEDA BÁEZ, L. F. (2012). *Determinación de la eficiencia de las características coagulantes y floculantes del tropaeolum tuberosum, en el tratamiento del agua cruda de la planta de puengasí de la EPMAPS*

⁸⁶ ROMERO ROJAS, J. A. Op. cit.; p. 231-240.

⁸⁷ OJEDA BÁEZ, L. F. Op. cit.

⁸⁸ ROMERO ROJAS, J. A. Op. cit.; p. 231-240.

2.5.3 Calidad del agua. El agua potable es necesaria para el desarrollo del consumidor; según Manuel Fontaine, Director de Programas de Emergencia de UNICEF, si el agua que un niño bebe es insalubre, ésta no aportará al mejoramiento de su malnutrición, ya que puede ocasionar diarrea, impidiendo la obtención de nutrientes esenciales. A nivel mundial 2100 millones de personas carecen de agua salubre⁸⁹.

Para los diferentes países, una de las preocupaciones principales es brindar agua potable a quienes no tienen acceso a ella, incluso sabiendo que es un derecho humano fundamental.

Cabe señalar que la calidad del agua depende del uso que se le vaya a dar, ya sea para el consumo humano, uso agrícola, uso industrial, recreación, entre otros. Sea cual sea su uso, existen ciertos parámetros que deben seguirse y límites permisibles de determinadas sustancias presentes en el agua. Bajo estas consideraciones, si un agua sufre cambios que puedan afectar su uso puede decirse que está contaminada y se realizará un tratamiento acorde al uso final de la misma.

Existen ciertas características fisicoquímicas y biológicas que determinan la calidad del agua puesto que afectan las condiciones estéticas del agua y su aceptabilidad. Dentro de los principales están la turbidez, el color, el olor y sabor, DBO, DQO⁹⁰.

2.5.3.1 Turbidez. Es la propiedad óptica de una suspensión que hace que la luz incidente sea reemitida y no transmitida a través de ella; representa la relación entre la luz incidente y la sustancia diseminante. La determinación de esta propiedad radica en el aspecto visual del agua para el consumo humano, debido a que no se han encontrado efectos directos sobre la salud.

Es originada por partículas en suspensión o coloides, las que por su tamaño se encuentran suspendidas, reduciendo la transparencia del agua. Principalmente la turbidez está formada por arcillas en dispersión, sin embargo, también puede encontrarse limo, materia orgánica e inorgánica, organismos planctónicos y microorganismos⁹¹.

La turbidez aparente de una suspensión puede verse afectada por el tamaño de las partículas que se encuentran en ella, influyendo en la cantidad de luz diseminada. Además, el índice de refracción influencia la relación entre la luz incidente y la luz

⁸⁹ UNICEF. Agua y hambre: Cuatro cosas que necesitas saber. Retrieved from https://www.unicef.org/spanish/wash/3942_100695.html?utm_source=unicef_news_es&utm_medium=rss&utm_campaign=rss_link_es

⁹⁰ DE VARGAS, L. Op. cit.

⁹¹ ROMERO ROJAS, J. A. Op. cit.; p. 231-240.

diseminada; es importante tener en cuenta que este parámetro también puede darse porque la celda del equipo se encuentre sucia⁹².

Se utiliza el método nefelométrico para determinar la turbidez, en el cual se mide la propiedad mediante un nefelómetro, expresando los resultados en unidades nefelométricas de turbidez (NTU por sus siglas en inglés). El principio del método se basa en la comparación de la dispersión de la muestra con un blanco a las mismas condiciones. Para la calibración del turbidímetro se utiliza un polímero de formacina porque es más reproducible que otro tipo de estándares.

2.5.3.2 Color. Existen dos tipos de color; el color aparente es tal que presenta la muestra antes de ser tratada en procesos de centrifugación o filtración, incluyendo el color de los sólidos suspendidos y disueltos, y el color verdadero que se presenta una vez fue removida la turbidez de la muestra.

2.5.3.3 Olor y sabor. Constituyen la causa principal de rechazo por el consumidor. Generalmente se presentan en simultáneo y son descritos cualitativamente, en cuanto al sabor se puede describir el agua como dulce, salada, ácida o amarga; existen también métodos cuantitativos que expresan su concentración.

Si la muestra de agua carece de olor, esto puede significar que no hay contaminantes en ella, no obstante, otra serie de estudios deben ser realizados.

2.5.3.4 DBO. La demanda bioquímica de oxígeno es un ensayo a nivel laboratorio, con el cual se determina el oxígeno molecular utilizado durante un periodo de incubación especificado para la degradación bioquímica de la materia orgánica y la cantidad de oxígeno para oxidar materia orgánica como sulfuros y formas reducidas de nitrógeno.⁹³

2.5.3.5 DQO. La demanda química de oxígeno es la cantidad de específica de un oxidante que reacciona con la muestra de agua bajo condiciones controladas. Con este parámetro, usualmente, se miden los contaminantes en aguas residuales y naturales⁹⁴.

2.5.3.6 Criterios químicos. A continuación, se muestran los valores aceptables de algunas de las sustancias químicas que presentan implicaciones sobre la salud humana, en la tabla 3.

⁹² ARBOLEDA VALENCIA, J. Op. cit.

⁹³ INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TECNICAS Y CERTIFICACIÓN. (2014). Norma técnica colombiana 3630 calidad del agua, demanda bioquímica de oxígeno (DBO) ICONTEC.

⁹⁴ INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TECNICAS Y CERTIFICACIÓN. (2015). Norma técnica colombiana 3629 calidad del agua, demanda química de oxígeno (DQO) ICONTEC.

Tabla 3. Valores permisibles según la Resolución 2115 de 2007⁹⁵

Sustancia	Valor Máximo Permitido mg/l
Cloruros	250
Fluoruros	1.0
Nitritos	0.1
Nitratos	1.0
Carbono orgánico total	5.0
Fosfatos	0.5
Sulfatos	250

Fuente: MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL, MINISTERIO DE AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL. Resolución 2115 Características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano, 2007; COLOMBIA, & MINISTERIO DE VIVIENDA. Título C sistemas de potabilización; In A. Vargas (Ed.), Reglamento técnico del sector de agua potable y saneamiento básico, 2010. Bogotá D.C.⁹⁶. Modificado por autores.

2.6 PROCESOS DE TRATAMIENTO DE AGUA

El agua insalubre debe ser sometida a una serie de operaciones que conforman un tratamiento cuyo fin es eliminar de ella aquellas sustancias o materia que exceden los límites normativos y pueden generar problemas en la salud del consumidor. Este tratamiento se divide en 3, primario, secundario y terciario.

En el tratamiento primario se pretende eliminar todo contaminante sedimentable y algunos suspendidos. Para esto se requieren 3 etapas, la coagulación, la floculación y la sedimentación.

El tratamiento secundario y terciario se basan en procesos químicos y biológicos con el fin de mejorar aún más la calidad del agua, utilizando operaciones unitarias no muy diferentes a las del tratamiento primario.

⁹⁵ MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL, MINISTERIO DE AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL. (2007). Resolución 2115 Características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano

⁹⁶ COLOMBIA, & MINISTERIO DE VIVIENDA. Título C sistemas de potabilización; In A. Vargas (Ed.), Reglamento técnico del sector de agua potable y saneamiento básico, 2010. Bogotá D.C.

2.6.1 Coagulación. La coagulación es el proceso más importante del tratamiento primario, ya que de su rendimiento dependen las etapas de floculación y sedimentación. Involucra la adición de una sustancia química o natural, llamada coagulante, cuya función es desestabilizar la materia suspendida, coloidal y disuelta⁹⁷.

Se caracteriza por ser un proceso rápido y dependiente de características del agua como el pH, la temperatura, la cantidad de partículas disueltas, entre otras⁹⁸. Con la coagulación es posible reducir la turbidez del agua, así como el color en algunas ocasiones⁹⁹.

La remoción de partículas coloidales está relacionada con una adecuada coagulación, y para que esta tenga lugar es necesario escoger un coagulante eficiente, capaz de condicionar las partículas presentes en el agua.

2.6.1.1 Mecanismos de coagulación. Existen tres mecanismos de coagulación que permiten desestabilizar la partícula:

➤ **Compresión de la doble capa eléctrica.** Generalmente, la superficie de las partículas contaminantes está cargada negativamente, entonces, en la interfaz sólido-líquido se presenta un cúmulo de iones positivos formando así la doble capa eléctrica. Los iones negativos se acercan a los positivos, y a su vez repelen a los iones que tienen la misma carga que la partícula¹⁰⁰ eliminando la barrera de energía.

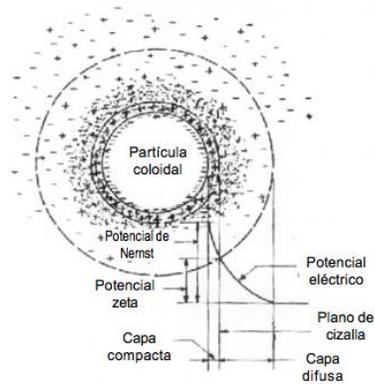
⁹⁷ CRITTENDEN, J. C., HAND, D. W., HOWE, K. J., TCHOBANOGLOUS, G., & TRUSSELL, R. R. Op. cit.

⁹⁸ DE VARGAS, L. (2004). Op. cit.

⁹⁹ ARBOLEDA VALENCIA, J. Op. cit.

¹⁰⁰ Ibid.

Figura 8. Doble capa eléctrica



Fuente: Arboleda Valencia, J. (2000). *Teoría y práctica de la purificación del agua.*

- **Neutralización de cargas por adsorción.** Mediante interacciones como puentes de hidrógeno, enlaces covalentes, reacciones de coordinación y reacciones de intercambio iónico puede darse la adsorción de especies químicas en la superficie de la partícula coagulante¹⁰¹; sin embargo, puede suceder que al añadir una cantidad excesiva de coagulante se reestablezca la partícula y no se dé la coagulación.
- **Mecanismo de barrido.** Al agregar una cantidad elevada de coagulante, se precipitan los hidróxidos formados por la reacción de alcalinidad y el agua con coagulante, ya que el límite de solubilidad del coagulante añadido fue excedido; una vez se forma el precipitado, éste arrastra las partículas contaminantes hasta el fondo, produciendo una reducción en la turbidez del agua.

2.7 COAGULANTES

Es una sustancia utilizada en el proceso de coagulación, puede ser química o de origen natural. Su función es desestabilizar las partículas contaminantes para facilitar la remoción de las mismas.

Existen muchas clasificaciones de los coagulantes, sin embargo, la más general es en cuanto a su naturaleza, metálicos, polielectrolitos o poliméricos y naturales.

¹⁰¹ OJEDA BÁEZ, L. F. Op. cit.

Los coagulantes metálicos más comunes son el sulfato de aluminio, el cloruro férrico y el sulfato ferroso. Son ampliamente utilizados en la industria, pero producen grandes cantidades de lodos y pueden quedar trazas de metales en el agua.

Por otra parte, los polielectrolitos funcionan en un amplio rango de pH pero son costosos, es por esto que se utilizan junto a los metálicos. Poseen una carga eléctrica neta que permite la atracción de partículas cargadas contrariamente.

Finalmente están los coagulantes naturales, los cuales representan una nueva alternativa y son obtenidos de plantas, cereales, semillas, entre otros.

2.7.1 Coagulantes naturales. Son producidos espontáneamente por reacciones en animales y plantas, son biodegradables, renovables y en general no tóxicos. Algunos tienen la capacidad de actuar como floculantes, acumulando la materia que se encuentre suspendida en el agua.

Este tipo de coagulantes han sido estudiados por muchos investigadores por su efectividad en el tratamiento de aguas; pueden ser extraídos de varias fuentes, así como se aprecia en la figura 9.

Figura 9. Polímeros naturales

Nombre Común	Se extrae de	Parte de donde se obtiene
Alginato de sodio	Algas pardas marinas (<i>Phaeophyceae</i>)	Toda la planta
Tuna	<i>Opuntia ficus indica</i>	Las hojas
Almidones	Maíz Papa Yuca Trigo	El grano o el tubérculo
Semillas de nirmali	<i>Strychnos potatorun</i>	Las semillas
Algarrobo	Quebracho, acacia o algarrobo <i>Schinopsis Lorentzii</i>	Corteza del árbol
Gelatina común	Animales	Residuos animales Huesos
Carboximetil celulosa	Arboles	Corteza del árbol
Goma de guar	<i>Cyanopsis psoralioides</i>	Semillas

Fuente: ARBOLEDA VALENCIA, J. *Teoría y práctica de la purificación del agua* (3rd ed.). 2000. Bogotá, Colombia: Mc Graw Hill.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIA PRIMA

3.1.1 Café verde. 2kg de frutos de café (*Coffea arabica*) variedad colombiana, proporcionados por Tecnicafé, Popayán. Las muestras de café verde (figura 10), fueron seleccionadas tras la separación con los frutos maduros usados para el procesamiento de la bebida del café, ya que presentaban defectos en su maduración principalmente, también contaban con defectos por oscurecimiento y maltrato por insectos; así mismo hay que tener en cuenta que el fruto una vez despojado del cafetal no continua con el proceso de maduración haciendo que el fruto se descomponga tornándose marrón¹⁰².

Figura 10. Muestra de café verde



El café no maduro en ocasiones es catalogado como un error de recolección, sin embargo, es necesario recogerlo para que la planta no gaste energía, ya que este gasto puede ocasionar retrasos en la maduración de la siguiente cosecha¹⁰³. Debe mencionarse además que el cafeto florece en diferentes épocas, es por esto que al realizar la recolección, pueden encontrarse granos en distinto estado de maduración¹⁰⁴.

¹⁰² APONTE, C., PALOMINO, M. Op. cit.

¹⁰³ Ibid.

¹⁰⁴ PUERTA Q., G. I. (2000). Influencia de los granos de café cosechados verdes, en la calidad física y organoléptica de la bebida. *Cenicafé*, 51(2), 136-150.

Como establecieron Aponte y Palomino, la especie *C. Arabica* fue escogida debido a la concentración de ácidos clorogénicos, el tipo de residuo, la disponibilidad de residuo y la concentración de flavonoides, como se observa en la tabla 4.

Tabla 4. Matriz de selección de la especie de café

Variedad	Concentración Ácidos Clorogénicos	Tipo de residuo	Disponibilidad del residuo	Concentración Flavonoides	TOTAL
	0,4	0,2	0,3	0,1	
<i>C. arabica</i>	36	50	50	37	43,1
<i>C. arabica</i> var <i>Caturra</i>	30	30	47,5	29	35,15
<i>C. arabica</i> var <i>Tipica</i>	30	30	42,5	31	33,85
<i>C. arabica</i> var <i>Colombia</i>	28	30	37,5	27	31,15
<i>C. arabica</i> var <i>Bourbon</i>	30	30	35	31	31,6
<i>C. canephora</i> cv <i>Robusta</i>	41	20	12,5	40	28,15
<i>C. canephora</i> cv <i>Robusta</i>	33	20	7,5	33	22,75
<i>C. canephora</i> cv <i>Robusta</i> (Angola)	32	20	7,5	32	22,25
<i>C. canephora</i> cv <i>Conillon</i> (Brasil)	50	20	5	50	30,5
<i>C. canephora</i> cv <i>Robusta</i> (Uganda)	35	20	2,5	35	22,25
Hibrido Timor (<i>C.arabica</i> x <i>C. canephora</i>)	30	20	2,5	29	19,65
Catimor (Hibrido Timor x <i>C. arabica</i>)	33	0	0	33	13,2

Fuente: APONTE, C., PALOMINO, M. *Separación de polifenoles a partir de los residuos de café para evaluar su aplicabilidad como parte de un coagulante*, 2017. Fundación Universidad de América de Bogotá.

Para establecer el total, otorgaron una ponderación a cada criterio, y le dieron a cada especie e hibridación un puntaje desde 0 hasta 50, obtenido tras la realización de una linealización de los datos recopilados. Como se aprecia en la tabla 4, la especie *Coffea arabica* pura es la opción adecuada ya que obtuvo el puntaje más alto con un valor de 43.1.

En cuanto al grado de maduración, realizaron una comparación de la concentración de ácidos clorogénicos entre el café verde, el café pintón, el café maduro y el café sobremaduro (tabla 5).

Tabla 5. Porcentaje CGA según el grado de madurez

	Arábica (%)
Verde	9,4
Pintón	7,2
Maduro	6,3
Sobre maduro	-

Fuente: APONTE, C., PALOMINO, M. *Separación de polifenoles a partir de los residuos de café para evaluar su aplicabilidad como parte de un coagulante*, 2017. Fundación Universidad de América de Bogotá. Modificado por autores.

Como se aprecia en la tabla 5, la concentración de polifenoles desciende a medida que el grado de maduración aumenta, es por tanto que el café verde se adecúa para la extracción de polifenoles.

La mayor parte de estudios acerca del grado de maduración del café, han sido realizados en Brasil; estipulan que en una recolección normal se cosecha de 29.8% a 42.2% de frutos maduros y de un 20.2% a 38.6% de frutos verdes¹⁰⁵. Adicionalmente, de los polifenoles totales extraíbles, el 90% corresponden a los ácidos clorogénicos y los flavonoides equivalen aproximadamente a un 8%, porcentajes que varían según la especie, pero que permanecen en proporciones similares¹⁰⁶.

3.1.2 Polifenoles. Se extrajeron los polifenoles del fruto del café siguiendo el protocolo llevado a cabo por Aponte y Palomino¹⁰⁷, descrito en el ANEXO B, usando el método de extracción asistido por ultrasonido en un baño ultrasónico *Wisd Ultrasonic cleaner Set, model WUC-D06H*, voltaje 110v/425w. Se hicieron extracciones en serie con el solvente Etanol 99.5% (Chemí) mezclado con agua destilada en una proporción 50/50; éste solvente se escogió una vez realizada una etapa pre experimental, para verificar con cual se obtiene una mayor cantidad de polifenoles además de rectificar el procedimiento realizado en la fase anterior.

¹⁰⁵ PUERTA Q., G. I. Op. cit.; p.136-150.

¹⁰⁶ APONTE, C., PALOMINO, M. Op. cit.

¹⁰⁷ APONTE, C., PALOMINO, M. Op. cit.

3.1.3 Agua Patrón. El agua que se trató en el test de jarras fue preparada a nivel laboratorio. Utilizando un litro de agua destilada se realizó una solución de 5000ppm de Caolín impalpable (Procomin), previniendo que existiera la presencia de otros compuestos teniendo en cuenta las investigaciones de Miller y Okuda^{108,109}. El agua fue preparada con un día de anterioridad, transcurrido este tiempo, la turbidez de la muestra fue de 520.90 NTU y tenía un pH de 7.32.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Extracción asistida por ultrasonido. Es uno de los métodos de separación sólido-líquido ampliamente usado en la actualidad para la extracción de compuestos bioactivos en plantas, por ser simple, amigable con el ambiente y una alternativa eficiente a las técnicas convencionales¹¹⁰. Con el uso de esta tecnología se puede llegar a acelerar la transferencia de calor y masa para obtener compuestos extraíbles por la interacción entre las ondas ultrasónicas y el material vegetal, alterando las propiedades físicas y químicas y alterando las paredes de las células, que por el efecto de cavitación facilita el aislamiento del compuesto a extraer¹¹¹.

El fundamento de la extracción se basa en el poder del ultrasonido, que es una vibración mecánica identificada por su frecuencia de onda, generalmente entre 20kHz a 10MHz, el cual es capaz de generar burbujas por cavitación que irrumpen en las paredes de las células¹¹².

En esta técnica se utilizan dos equipos diferentes dependiendo el propósito de la extracción, que son el baño por ultrasonido y el uso de sondas ultrasónicas, éste último para volúmenes más pequeños. Generalmente, para la extracción de polifenoles en vegetales se aplica el baño ultrasónico como lo hace Wang, para determinar los compuestos fenólicos totales presentes en la especie *Inula helenium* corroborando que con este método se pueden disminuir los tiempos de extracción y la cantidad de solvente¹¹³. En cuanto a los parámetros a tener en cuenta para la extracción que afectan directamente la cantidad de polifenoles obtenidos, están la relación solvente-agua, el tiempo de extracción, la cantidad del sólido y la temperatura de la extracción¹¹⁴.

¹⁰⁸ MILLER, S., FUGATE, E., CRAVER, V., SMITH, J., & ZIMMERMAN, J. Op. cit.; p. 4274-4279.

¹⁰⁹ OKUDA, T., BAES, A. U., NISHIJIMA, W., & OKADA, M. Op. cit.; p. 3373-3378.

¹¹⁰ WATSON, R. R. Op. cit.

¹¹¹ CHEMAT, F., ZILL-E-HUMA, & KHAN, M. K. Op. cit.

¹¹² MEULLEMIESTRE, A., BREIL, C., ABERT-VIAN, M., & CHEMAT, F. Op. cit.

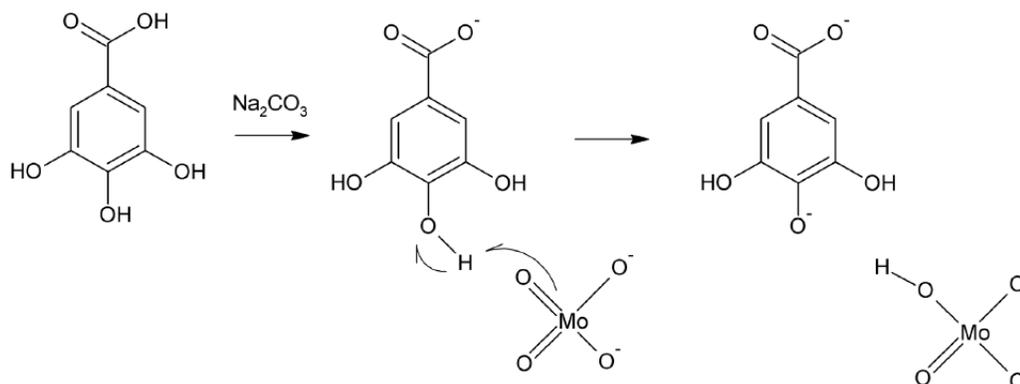
¹¹³ JIN, W., YONG-MING, Z., YA-TING, T., CHUN-LIN, Y., & CHUN-YAN, G. (2013). Ultrasound-assisted extraction of total phenolic compounds from inula helenium. *TheScientificWorldJournal*, 2013, 157527. doi:10.1155/2013/157527

¹¹⁴ WATSON, R. R. Op. cit.

3.2.2 Cuantificación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu.

La determinación del contenido de polifenoles totales, regularmente se hace por el método de Otto Folin y Vintila Ciocalteu. En esta etapa se siguió el protocolo del anexo C, donde se usan como reactivos Carbonato de Sódico (Rodaquímicos), Folin-Ciocalteu 99% (Sigma Aldrich) y para la curva de calibración con Ácido gálico (Merck) y haciendo las lecturales de las soluciones en el espectrofotómetro *JENWAY 6320D*, voltaje: 230/115v. El método se basa en la reacción de los compuestos fenólicos con un agente colorimétrico, permitiendo medir la porción visible del espectro; la porción visible es dada por el viraje de la solución a un color azulado, puesto que los iones de molibdato presentes en el reactivo de Folin Ciocalteu (FC) se oxidan a Mo(V), ya que se han cedido electrones del radical hidroxilo de la estructura de los compuestos fenólicos en un medio alcalino, medido por la absorbancia a 765nm. A continuación, se puede apreciar la reacción que ocurre entre el ácido gálico y el reactivo de FC, en la figura 11. Los datos de absorbancia de las muestras se comparan con los de una solución estándar de ácido gálico que es equivalente en peso si el ácido tánico se considera pentagalactoglucosa, por medio de una curva patrón^{115,116,117}.

Figura 11. Reacción entre Ácido gálico y el reactivo FC



Fuente: Muñoz et al. Nuevo acercamiento a la interacción del reactivo Folin-Ciocalteu con azúcares durante la cuantificación de polifenoles totales, 2017.

¹¹⁵ SINGLETON, V. L., ORTHOFER, R., & LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in enzymology* (pp. 152-178) Elsevier Science & Technology. doi:10.1016/S0076-6879(99)99017-1

¹¹⁶ GILLESPIE, K. M., & AINSWORTH, E. A. (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using folin-ciocalteu reagent. *Nature Protocols*, 2(4), 875-877. doi:10.1038/nprot.2007.102

¹¹⁷ LEWIS, M. (2012). *Protocol estimation of the phenolic and other oxidation substrate content in extract using folin ciocalteu reagent*

3.2.2.1 Interferencias del método. Los resultados que se obtienen por este método se pueden ver afectados por diferentes factores, que se pueden dividir por tipo inhibitorio, aditivo y por mejora. En el inhibitorio se pueden generar oxidantes que compitan con el reactivo de Folin o se genere aire oxidativo posterior a la alcalización de la muestra, adicionalmente, el uso de algunos solventes puede llegar a inhibir el color de la muestra, pero es poco el efecto y hasta evitable, por lo cual es importante escoger bien el solvente de las muestras¹¹⁸. Para la extracción de polifenoles fue utilizado etanol como solvente, no obstante, la muestra fue rotoevaporada tras finalizar la etapa de filtrado con el fin de recuperar el solvente en su totalidad, disminuyendo la posibilidad de presentarse como un inhibidor en el proceso de cuantificación.

En cuanto al aditivo, se crea cuando hay fenoles imprevistos, aminos aromáticos, niveles de azúcares alto o presencia de ácido ascórbico en la muestra a analizar, lo que conlleva a una sobreestimación de los polifenoles reales en la muestra. Los azúcares en base molar no afectan significativamente si están a temperatura ambiente, pero si esta es aumentada la interferencia por sobreestimación será notable¹¹⁹. Los extractos vegetales, están conformados por una gran variedad de biocompuestos, entre ellos azúcares que pueden interferir en la cuantificación; en los granos de café marrones o inmaduros se logra determinar la presencia de azúcares reducidos, sucrosa, galactosa, xilosa y fructosa^{120,121}. El último azúcar, si se encuentra en alta concentración en los extractos vegetales tendrá un efecto visible en la sobreestimación de la cantidad de polifenoles, según el estudio de Muñoz y colaboradores¹²², quienes aconsejan que lo mejor es tener en cuenta los azúcares presentes para no tener datos erróneos.

3.2.3 Diseño de experimentos. Para comprobar si los polifenoles extraídos de los residuos de *Coffea arabica* reducen la turbidez en una muestra de agua patrón, son llevados a una serie de pruebas en las que varían las condiciones de pH y concentración del coagulante, siendo estos los factores del diseño de experimentos; una vez fueron determinados los factores, se establecieron los niveles para cada uno.

¹¹⁸ SINGLETON, V. L., ORTHOFER, R., & LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Op. cit.; p. 152-178

¹¹⁹ GILLESPIE, K. M., & AINSWORTH, E. A. Op. cit.; p. 875-877.

¹²⁰ MAZZAFERA, P. Op. cit.; p. 547-554.

¹²¹ GALANAKIS, C. M. Op. cit.

¹²² MUÑOZ, Ó. A., TORRES, G. A., NÚÑEZ, J. A., DE LA ROSA, L., RODRIGO, J., AYALA, J. F., & ÁLVAREZ, E. (2017). Nuevo acercamiento a la interacción del reactivo de folin-ciocalteu con azúcares durante la cuantificación de polifenoles totales. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 20(2), 23-28. Retrieved from <https://doaj.org/article/4b92983cad9846f9bb0467e9996ad387>

Teniendo en cuenta lo anterior, se estableció un diseño de experimentos multifactorial de 4², con el cual se comprueba si existe una relación entre la concentración del coagulante en partes por millón agregados a la muestra de agua patrón y el pH de las muestras, ya que estos dos parámetros afectan directamente en el procedimiento de la coagulación; siendo los dos factores por analizar¹²³, planteando las siguientes hipótesis:

H_0 = Los factores o la interacción entre ellos no influyen en la turbidez final

H_1 = Los factores o la interacción entre ellos influyen en la turbidez final

El arreglo experimental se ve en la tabla 6.

Tabla 6. Diseño de experimentos para el Test de jarras

Concentración Polifenoles (ppm)	Turbidez final (NTU)			
	pH			
	pH ácido 1	pH ácido 2	pH ácido 3	pH ácido 4
100%	1	5	9	13
	1R	5R	9R	13R
75%	2	6	10	14
	2R	6R	10R	14R
50%	3	7	11	15
	3R	7R	11R	15R
25%	4	8	12	16
	4R	8R	12R	16R

¹²³ ÁLVAREZ CÁCERES, R. (1994). *Estadística multivariante y no paramétrica con SPSS: aplicación a las ciencias de la salud*. Madrid: Ediciones Díaz de Santos. Retrieved from <http://ebookcentral.proquest.com/lib/biblioamericasp/detail.action?docID=3175367>

3.2.4 Test de jarras. Se llevó a cabo el protocolo para el test de jarras detallado en el ANEXO D. Este método es usado para simular el funcionamiento de una planta de tratamiento de agua a nivel de laboratorio y la química de la clarificación¹²⁴, permitiendo la selección del rango de operación del coagulante en cuanto a la dosis óptima y el pH; así mismo determinar los cambios en la velocidad de sedimentación dado a las diferentes condiciones de operación del coagulante, como, pH, temperatura, velocidad de mezclado, entre otros¹²⁵. El equipo del test de Jarras consta de 4 o 6 vasos de precipitado de Griffin, dependiendo el tamaño del equipo, con paletas de mezclado para cada vaso; como se ve en la figura 12.

El procedimiento consiste, generalmente, en una fase rápida de agitación una vez el coagulante se agrega, seguido de este paso, la velocidad se disminuye para mantener en suspensión uniforme los flóculos formados. Finalmente, los flóculos se dejan sedimentar para tomar las muestras del sobrenadante y así analizar las propiedades de remoción y cambios de las características iniciales del agua^{126, 127, 128}.

Figura 12. Equipo para el Test de Jarras



Fuente: ARNOLD, A. *Evaluation and quantification of engineered flocs and drinking water treatability* Available from Dissertations & Theses @ Library and Archives Canada. 2008. Retrieved from <http://search.proquest.com/docview/304822080>

¹²⁴ RESTREPO OSORNO, H. A. (2009). *Evaluación del proceso de coagulación - floculación de una planta de tratamiento de agua potable* Retrieved from <http://www.bdigital.unal.edu.co/877/>

¹²⁵ DEMPSEY, B. A. (2006). Chapter 2: Coagulant characteristics and reactions. *Interface science and technology* (pp. 5-24) Elsevier Science & Technology. doi:10.1016/S1573-4285(06)80071-2

¹²⁶ CRITTENDEN, J. C., HAND, D. W., HOWE, K. J., TCHOBANOGLIOUS, G., & TRUSSELL, R. R. Op. cit.

¹²⁷ ARNOLD, A. (2008). *Evaluation and quantification of engineered flocs and drinking water treatability* Available from Dissertations & Theses @ Library and Archives Canada. Retrieved from <http://search.proquest.com/docview/304822080>

¹²⁸ ICONTEC. (1996). NTC 3903. *Gestión ambiental. agua. procedimiento para el método de jarras en la coagulación-floculación del agua*

Según la Norma Técnica Colombiana 3903 Gestión ambiental, agua: procedimiento para el método de jarras en la coagulación-floculación del agua, en el procedimiento del test de jarras existen interferencias que obstaculizan la selección de los factores óptimos del ensayo y en consecuencia las mejores condiciones de operación a escoger del coagulante. Estos elementos que influyen durante el ensayo son: el aumento de la temperatura durante el ensayo, generado por corrientes térmicas o de convección; también está la liberación de gas, que son burbujas causadas por la agitación, el aumento de la temperatura o una reacción química; por último, está el periodo de ensayo, donde las características de coagulación se ven alteradas por actividad biológica presente en la muestra de agua¹²⁹.

3.2.5 Método nefelométrico de turbidez. Este método es aplicado para determinar la turbidez en el agua, por la precisión, sensibilidad y fácil aplicabilidad. Se basa en la comparación de la intensidad de la luz dispersada por la muestra caracterizada y la dispersada por una solución patrón, donde a mayor intensidad de la luz dispersa, la turbidez será más intensa; en cuanto a la muestra patrón, se hace una solución con el polímero de formazina, que a la concentración conocida del polímero y las propiedades para desviar la luz son mejores que las preparadas con aguas turbias, la turbidez de la muestra equivaldrá a 40 NTU^{130, 131}, los pasos para la calibración del turbidímetro y el protocolo para medir la turbidez, se encuentran en el ANEXO G y D, respectivamente.

En cuanto al equipo, se utiliza un turbidímetro que cuenta con un nefelómetro en una fuente de luz para iluminar la muestra, y uno o más detectores fotoeléctricos con un dispositivo de lectura exterior para indicar la intensidad de la luz dispersada a 90° de la vía de la luz incidente¹³².

Se debe agregar que el método presenta interferencias, puesto que la turbidez se determina de cualquier muestra de agua libre de residuos o de sedimentos gruesos, también, la suciedad del vidrio, presencia de burbujas y vibraciones que alteren la visibilidad superficial de la muestra, generarán datos erróneos. Otro factor, puede ser el color verdadero, resultado de las partículas disueltas que absorben la luz, generando una turbidez más baja¹³³.

¹²⁹ ICONTEC. Op. cit.

¹³⁰ LONDOÑO, A., GIRALDO, G. I., & GUTIÉRREZ, A. A. (2010). *Métodos analíticos para la evaluación de la calidad fisicoquímica del agua* Universidad Nacional de Colombia.

¹³¹ American Water Works Association, (AWWA), American Public Health Association, (APHA), & Water Pollution Control Federation, (WPCF). (1992). *Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales* Ediciones Díaz de Santos.

¹³² Ibid.

¹³³ Ibid.

3.2.6 Actividad coagulante y porcentaje de remoción. Con el arreglo de condiciones de operación de los polifenoles como coagulante, con respecto a la dosis y el pH, se puede determinar la eficiencia de este y seleccionar la mejor interacción, por medio del índice de remoción (ecuación 1), el cual compara la turbidez inicial de la muestra de agua patrón con la turbidez final de las muestras una vez adicionado el coagulante. Igualmente, la turbidez final se relaciona con la turbidez del blanco, para obtener la actividad coagulante; uno de los criterios más relevantes para el proyecto, con la ecuación 2.

Ecuación 1. Índice de remoción de turbidez¹³⁴.

$$IRT\% = \frac{(Turbidez\ Inicial - Turbidez\ Final)}{Turbidez\ Inicial} * 100$$

Ecuación 2. Actividad coagulante

$$Actividad\ coagulante = \frac{(Turbidez\ blanco - Turbidez\ Final)}{Turbidez\ blanco} * 100$$

3.2.7 Ensayo coagulante metálico. Se preparó una solución de sulfato de aluminio con una concentración de 60g/l (6.00E+04ppm)¹³⁵, de la cual fueron añadidos 5ml a una muestra de agua; se manejó un pH de 4 y una agitación de 40rpm por 30 minutos tras haber hecho una agitación inicial de 100rpm durante un minuto.

¹³⁴ ZAMUDIO, J., CHAMORRO, D., MORENO, J., SOLAQUE, Ó., CAFIERO, A., & PALOMINO, E. (2015). Desarrollo de un floculante natural para el tratamiento de aguas superficiales en hogares del sector rural del municipio de fusagasugá. *Tecnología Y Productividad*, 71-83. Retrieved from <http://revistas.sena.edu.co/index.php/rtyp/article/view/248>

¹³⁵ ROMERO ROJAS, J, A. Op. cit.; p. 231-420.

4. EXTRACCIÓN DE POLIFENOLES

En este capítulo se describe el proceso realizado para extraer los polifenoles de una muestra de café; se incluye la fase de pre experimentación, por medio de la cual se escoge el solvente a utilizar en el proceso extractivo, tomando acetona y etanol. Adicionalmente, se analizan los resultados obtenidos, recurriendo al método de Folin-Ciocalteu para la determinación de polifenoles totales de la muestra.

4.1 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

Antes de iniciar la extracción, se determinó el porcentaje de humedad de la muestra de café. El 9 de agosto fueron recibidos los primeros 2Kg, con los cuales se realizaron los primeros dos experimentos. Para el tercero, se evaluó otra muestra recibida el 14 de septiembre; ambas suministradas por Tecnicafé. Con los resultados obtenidos pudo comprobarse que la humedad del café en promedio no varía mucho de una muestra a otra, ya que entre la muestra II y III sólo hay un 0.2429% de diferencia.

El tamaño del café se redujo para agilizar el proceso de secado; se utilizó un molino de discos marca Corona, alimentando el fruto completo. Por efectos de la presión y la fricción se reduce el tamaño, pero también se pierde líquido al comprimir el café, por tanto, no se conoce con certeza la cantidad de agua presente. Es por esto que se optó por usar un molino de cuchillas (licuadora) *SAMURAI LX-ELECTRONIC 20 speed + pulse*, durante un minuto y con una velocidad de 2000rpm (Figura 13).

Figura 13. Molino de cuchillas



Se tomaron entonces, 5g de café en cápsulas de porcelana con tapa y se llevaron al horno de calor Nabertherm Muffle Furnace como puede apreciarse en la figura 14, a una temperatura de 110°C. Para la determinación de la humedad, se pesaron las cápsulas vacías y con la muestra por cada hora que pasaban en el horno hasta que el peso fuera constante. El protocolo para determinar la humedad de la muestra está detallado en el anexo A.

Figura 14. Cápsulas listas para secado



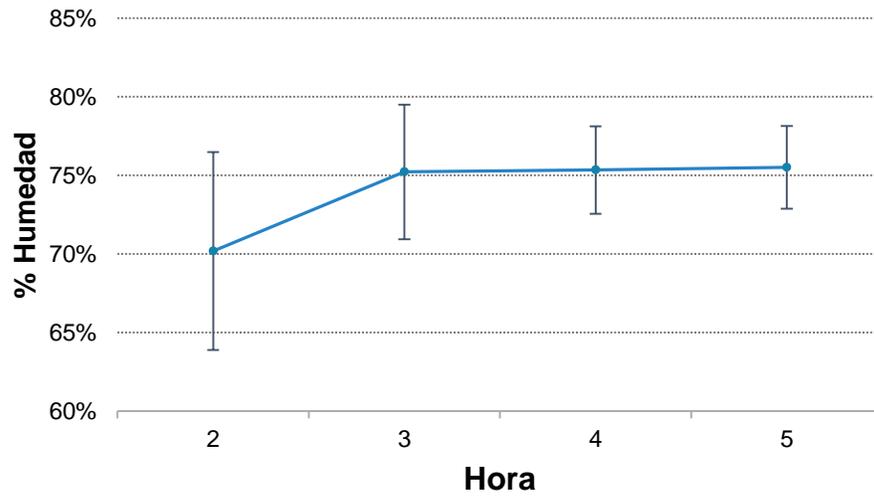
Los experimentos I y II tardaron una hora más en mantener su peso y esto se explica por la inactivación de las perlas del desecador. En la tabla 7 se muestran los resultados de humedad obtenidos, además del error absoluto y la desviación estándar de cada uno.

Tabla 7. Estadística del porcentaje de humedad

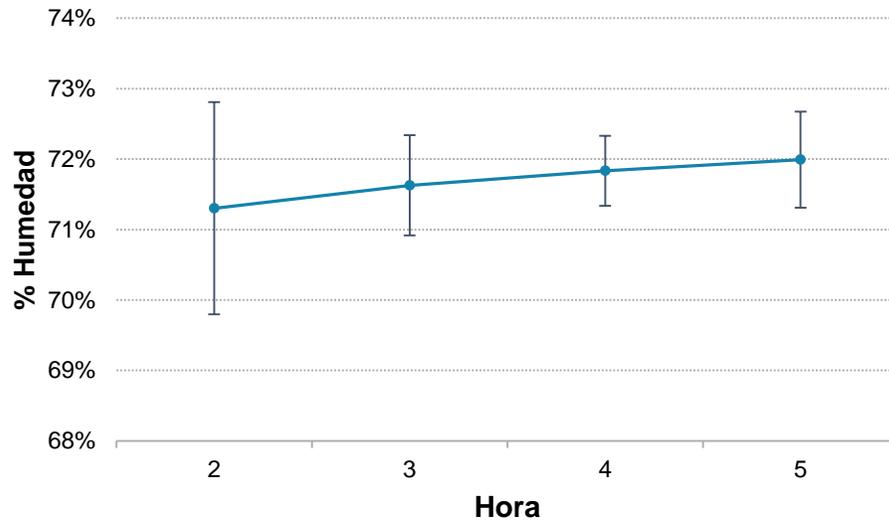
Experimento	Hora	% Humedad	Error Absoluto	Desviación Estándar
I	2	70.1858%	3.8803%	4.2804%
	3	75.2225%	1.1564%	2.7866%
	4	75.3422%	1.2761%	2.6317%
	5	75.5139%	1.4478%	2.8265%
II	2	71.3020%	0.3872%	0.7134%
	3	71.6280%	0.0611%	0.4970%
	4	71.8350%	0.1459%	0.6816%
III	5	71.9916%	0.3024%	0.7781%
	2	71.8937%	0.0383%	0.9108%
	3	71.9494%	0.0174%	0.8628%
	4	71.9529%	0.0209%	0.8719%

La primera medición, que fue realizada una hora después de meter las cápsulas al horno, no fue tomada en cuenta para el cálculo del porcentaje de humedad, debido al poco tiempo que habían sido sometidas las muestras a la temperatura que permitía la evaporación del agua. En las gráficas 1, 2 y 3 se puede observar la curva de secado.

Gráfica 1. Porcentaje de Humedad vs Tiempo

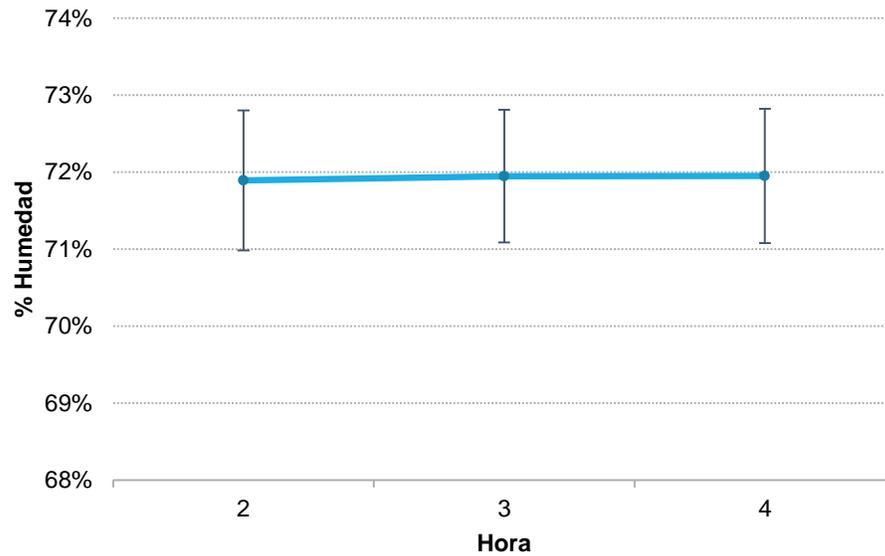


Gráfica 2. Porcentaje de humedad vs Tiempo (Experimento II)



Si bien, la desviación estándar no es muy alta y el coeficiente de variación no es superior al 10% en los experimentos I y II (2% y 0.2% respectivamente), debe recalcarse que el experimento III presenta menores errores y un coeficiente de variación menor (0.05%).

Gráfica 3. Porcentaje de humedad vs Tiempo (Experimento III)



Además de calcular el error absoluto y la desviación estándar de cada experimento se pudo determinar el porcentaje de humedad del café y la correspondiente incertidumbre.

Tabla 8. Porcentaje de humedad

Experimento	% Humedad
I	74.0661% $\pm 1\%$
II	71.6891% $\pm 0.1\%$
III	71.9320% $\pm 0.03\%$

Con los resultados presentados en la tabla 8 y las gráficas 1, 2 y 3, se establece que el porcentaje de humedad del café es del 71.9320% con una incertidumbre de $\pm 0.03\%$ ya que la desviación estándar y el error presentados por cada uno de los datos del tercer experimento son menores.

4.2 EXTRACCIÓN

Teniendo en cuenta la investigación realizada por Aponte y Palomino, donde comparan diferentes arreglos para el protocolo de extracción, modificando el tiempo de extracción, tipo de solvente y el efecto que tiene el emplear la extracción soxhlet, la asistida por ultrasonido o por agitación en la concentración obtenida de polifenoles, se escoge la extracción asistida por ultrasonido como método de separación, ya que obtuvieron 10 veces la concentración de polifenoles con este

método que utilizando la agitación¹³⁶. Para realizarla fue necesario preparar la muestra a extraer, además de una pre experimentación con el fin de seleccionar el solvente con el cual se obtendrá una mayor cantidad de polifenoles.

4.2.1 Preparación de la muestra. Se tomó una muestra de café fresco para cada experimento, así como en la determinación de humedad, se licuaron durante un minuto, a máxima potencia, para disminuir el tamaño del fruto de café y así incrementar el área de contacto con el solvente en la extracción.

4.2.2 Pre experimentación.

4.2.2.1 Extracción por ultrasonido. La extracción asistida por ultrasonido fue el método escogido en la fase I para la separación de los polifenoles, no obstante, se quiso corroborar el rendimiento que se obtiene al extraer con cierto solvente. Se tomaron entonces acetona y etanol para ser evaluados. Por otra parte, una de las recomendaciones de la fase anterior era saber qué efecto tiene la actividad de la enzima polifenol oxidasa (PPO), debido a que convierte los polifenoles en o-quinonas; se optó por una inactivación física mediante el ajuste del pH de la solución utilizando ácido acético en compañía de los solventes previamente mencionados^{137, 138}.

Los autores de la fase I realizaron una matriz de selección para determinar el método de extracción; una vez escogido, se realizaron 15 experimentos con su respectiva réplica variando el tiempo de extracción, la frecuencia de ultrasonido y la agitación posterior de la muestra (Tabla 9).

Tabla 9. Combinaciones del proceso de extracción (Fase I)

MUESTRA	TIEMPO ULTRASONIDO	TIEMPO AGITACIÓN	FRECUENCIA ULTRASONIDO
1	0	0	0
2	0	12	0
3	0	24	0
4	30	0	30
5	30	12	30
6	30	24	30
7	60	0	30

¹³⁶ APONTE, C., PALOMINO, M. Op. cit.

¹³⁷ LONDOÑO, J., BRAVO, K. E., ZAPATA, P., & MUÑOZ, K. Op. cit.; p. 161-164.

¹³⁸ GUERRERO, C. A. Op. cit.

Tabla 9. (Continuación)

MUESTRA	TIEMPO ULTRASONIDO	TIEMPO AGITACIÓN	FRECUENCIA ULTRASONIDO
8	60	12	30
9	60	24	30
10	30	0	60
11	30	12	60
12	30	24	60
13	60	0	60
14	60	12	60
15	60	24	60

Fuente: APONTE, C., PALOMINO, M. *Separación de polifenoles a partir de los residuos de café para evaluar su aplicabilidad como parte de un coagulante*, 2017. Fundación Universidad de América de Bogotá.

El mejor rendimiento se obtuvo con el método de extracción es el ultrasonido, sin agitación, durante 60 minutos y una frecuencia de 60 kHz; sin embargo, el equipo utilizado alcanzaba una frecuencia de 40 kHz, por tanto, esta fue la frecuencia utilizada en la fase II.

En 4 Erlenmeyer de 250ml, se prepararon soluciones de agua-acetona y agua-etanol, pero solo a una de cada experimento se le fue agregado ácido acético hasta ajustar el pH por debajo de 5. La muestra de café previamente licuada fue agregada a los Erlenmeyer y luego fueron sometidos a la extracción durante 60 minutos y 40KHz en un baño ultrasónico *Wise Ultrasonic cleaner Set, model WUC-D06H*, como se observa en la figura 15. Para cada uno de los experimentos, se realizó una réplica.

Figura 15. Baño ultrasónico



4.2.2.2 Filtración de la muestra. Utilizando una bomba de vacío MZ 2C NT, embudos buchner, kitasato y papel filtro estándar con porosidad entre 5-11µm se filtraron las muestras al culminar la extracción.

Figura 16. Montaje de filtración



4.2.2.3 Determinación de sólidos totales. Una vez filtradas las muestras y siguiendo el protocolo establecido en la Norma Técnica Colombiana NTC 897 calidad del agua: determinación del contenido de sólidos,, se tomaron 10ml del sobrenadante, fueron puestos en cápsulas y llevados al horno *Nabertherm Muffle Furnace* a 110°C para evaporar hasta sequedad, aproximadamente una hora, para luego pasarlas al desecador y que se enfriaran; luego se hizo el pesaje de las cápsulas y se repitió el procedimiento hasta obtener un peso constante, con una tolerancia de 0,5g. Paralelamente, se realizó el secado del precipitado a las mismas condiciones (110°C), hasta obtener peso constante; así determinar si hubo pérdida de masa de los extractos de café inicialmente licuados en base seca y ver si se cumple el balance de masa. Los datos que se obtuvieron están expresados en la tabla 10.

Tabla 10. Sólidos Totales del Sobrenadante y el precipitado.

Muestra	Sólidos entrada (g/l)	Sólidos en suspensión (g/l)	Sólidos precipitados (g/l)	Pérdida (g/l)	
1 1A	AAA	2.5939	0.0653	2.2352	0.4240
2 2A	AA	2.5945	0.0526	2.1417	0.5054

Tabla 10. (Continuación)

Muestra		Sólidos entrada (g/l)	Sólidos en suspensión (g/l)	Sólidos precipitados (g/l)	Pérdida (g/l)
3	EA	2.5946	0.0577	2.5236	0.1287
3A	A				
4	EA	2.5942	0.0683	2.0221	0.6404
4A					

Según los resultados en base seca, se puede apreciar que hubo pérdidas aproximadas de 0,5g del material sólido de los extractos, que pueden estar relacionados con la merma del kitasatos al filtrar y en el embudo buchner o principalmente esta disminución del peso inicial se deba a los polifenoles extraídos de la matriz sólida. Se puede notar que el experimento con Etanol-Agua fue el que más disminución tuvo con un valor de 0.6404 g/l.

4.2.2.4 Recuperación del solvente. El sobrenadante obtenido fue llevado al *rotoevaporador Heildoph G3 Hei-Vap precision*, en donde se recuperó el solvente utilizado para cada extracción, concentrando los polifenoles. Para esto, se utilizan procesos unitarios como evaporación y condensación asistidos por vacío. Adicionalmente, las condiciones de operación varían según el solvente utilizado como se aprecia en la tabla 11.

Tabla 11. Condiciones de operación del rotoevaporador

Condiciones de Operación		
Acetona	Temperatura	56.5°C
	Presión	556mbar
Etanol	Temperatura	78.4°C
	Presión	175mbar

Las muestras que contenían ácido acético presentaron mayores tiempos de recuperación, una hora más en comparación con las muestras que no contenían este ácido. Debido a que las condiciones no están estipuladas para mezclas de compuestos. Se debe agregar también que, la acetona fue recuperada más rápidamente, además de presentar los volúmenes más altos (tabla 12).

Tabla 12. Condiciones de operación del rotoevaporador

Volumen recuperado (ml)	
Acetona-Acético-Agua	103-152
Acetona-Agua	43-67
Etanol-Acético-Agua	30-73
Etanol-agua	63-60

En general, las réplicas de las extracciones presentaron mejores resultados puesto que ya se conocían con certeza las condiciones de operación del equipo.

4.2.2.5 Caracterización de la muestra. La caracterización de las muestras determinó con qué solvente se obtenía una mayor concentración de polifenoles. Se realizó una curva de calibración, haciendo diluciones seriadas de una muestra madre de ácido gálico, tomando en cuenta el procedimiento requerido por el método de Folin Ciocalteu¹³⁹. Una vez seguido el protocolo (anexo C), se realizó la lectura de la absorbancia en un espectrofotómetro *JENWAY 6320D a 765nm*. Las concentraciones de cada muestra y su absorbancia respectiva pueden verse en la tabla 13.

Tabla 13. Diluciones y absorbancia de ácido gálico

Concentración	0.03M	0.1mM	0.31mM	0.93mM	2.78mM	8.3mM
Absorbancia	0.001	0.073	0.107	0.199	0.625	1.658

Seguidamente, se tomaron muestras de los experimentos tras haber realizado la recuperación del solvente; así como en la curva patrón, el método de la determinación de polifenoles totales fue practicado y fueron leídas las absorbancias de cada muestra a 765nm (tabla 14).

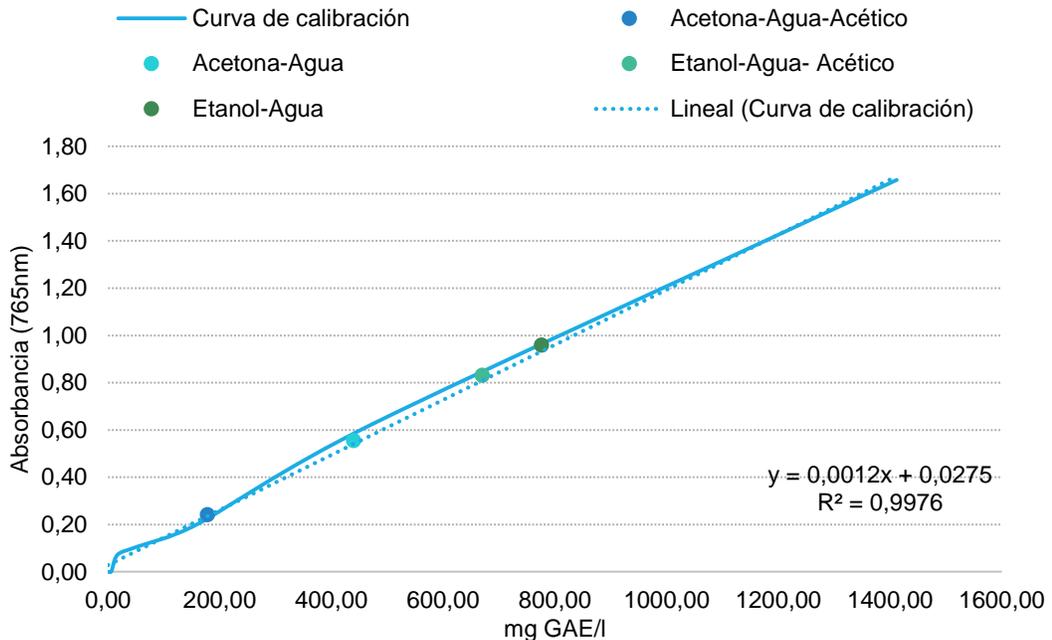
Tabla 14. Absorbancia de las muestras

Muestra	AAA	AA	EAA	EA
Absorbancia	0.241	0.555	0.831	0.959

Con las absorbancias de las muestras y los datos necesarios para construir la curva patrón fue posible realizar una gráfica que mostrara cuál de los 4 experimentos lograba mejores resultados.

¹³⁹ SINGLETON, V. L., ORTHOFER, R., & LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Op. cit.; p. 152-178.

Gráfica 4. Curva de calibración pre experimentación



Con la construcción de la curva, se obtiene la ecuación $y = 0.0012x + 0.0275$, con la cual es posible calcular la cantidad de polifenoles en términos de miligramos de ácido gálico por litro. Mientras más cercano a 1 se encuentre el coeficiente de correlación múltiple (R^2), mejor será el ajuste del modelo; al alcanzar un $R^2 = 0.99757$, se puede verificar que los resultados obtenidos se encuentran cercanos a su valor real.

Se tomó entonces la ecuación de la recta y se determinaron los polifenoles totales presentes en cada una de las muestras según la absorbancia presentada por cada una de ellas.

A partir de los resultados de cada experimento, se evidencia que utilizando una mezcla de etanol y agua como solvente extractivo se obtiene una mayor cantidad de polifenoles en la muestra. Si se comparan las muestras acetona-agua y etanol agua, que presentaron mejores resultados de acuerdo a la naturaleza del solvente, puede decirse que, con la segunda, se obtuvo un 76.52% más de polifenoles que con la primera, comprobando así la efectividad del último experimento.

Los datos de los polifenoles totales obtenidos en cada experimento pueden ser expresados en mg GAE/g de Café en base seca, conociendo la humedad de la muestra de café se pueden de terminar con la siguiente ecuación de balance de masa:

Ecuación 3. mg GAE/ g muestra en base seca

$$\frac{\text{mg GAE}}{\text{g Café seco}} = \frac{\text{mg GAE}}{l} * \frac{\text{Volumen de la muestra inicial (l)}}{\text{Muestra de café (g)} * (1 - \% \text{Humedad de la muestra})}$$

La concentración obtenida con la mezcla de etanol y agua como solvente es la mayor. Por otra parte, en la tabla 15 se presenta un pequeño recuento bibliográfico de las concentraciones obtenidas por otros investigadores que, si bien no utilizan los mismos métodos o el fruto completo, han extraído polifenoles de café. Es necesario resaltar que no existen muchos estudios de extracción de polifenoles a partir del fruto completo de café verde, es por esto que se toman en cuenta otros subproductos del café para comparar los resultados obtenidos en esta investigación; así mismo, se comparan los resultados con otros métodos de extracción para enriquecer el ejercicio.

Tabla 15. Recuento bibliográfico

Autor	mg GAE/ g	Fuente	Método
Al-Dhabi et al. (2017) ¹⁴⁰	33.84	Café molido	Ultrasonido
Ballesteros et al. (2017) ¹⁴¹	40.36	Café molido	Agua subcrítica
Shang et al. (2017) ¹⁴²	26.46	Café molido	Líquido presurizado
Heeger et al. (2017) ¹⁴³	9.20	Pulpa café cereza	Acuosa
Conde et al. (2016) ¹⁴⁴	32.92	Café molido	Pretratamiento térmico

¹⁴⁰ AL-DHABI, N. A. PONMURUGAN, K., MARAN JEGANATHAN, P. Development and validation of ultrasound-assisted solid-liquid extraction of phenolic compounds from waste spent coffee grounds. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2017. 34(Supplement C):206-213. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1350417716301468>. doi: //doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.05.005.

¹⁴¹ BALLESTEROS, L.F., RAMIREZ, M. J., ORREGO, C. E., TEIXEIRA, J. A., MUSSATTO, S. I. (2017). Optimization of autohydrolysis conditions to extract antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. *Journal of Food Engineering*. 199:1-8. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2016.11.014.

¹⁴² SHANG, Y., XU, J., LEE, W., UM, B. (2017). Antioxidative polyphenolics obtained from spent coffee grounds by pressurized liquid extraction. *South African Journal of Botany*. 109:75-80. doi: 10.1016/j.sajb.2016.12.011.

¹⁴³ HEEGER, A., KOSINKA-CAGNAZZO, A., CANTERGIANI, E., & ANDLAUER, W. (2017). Bioactives of coffee cherry pulp and its utilisation for production of cascara beverage. *Food Chemistry*. 221:969-975. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.11.067.

¹⁴⁴ CONDE, T., MUSSATO, S. I. (2016). Isolation of polyphenols from spent coffee grounds and silverskin by mild hydrothermal pretreatment. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*.

Tabla 15. (Continuación)

Autor	mg GAE/ g	Fuente	Método
Xu et al. (2015) ¹⁴⁵	86.23	Café molido	Agua subcrítica
Mullen et al. (2013) ¹⁴⁶	50.00	Fruto completo	Centrifuga
Mussatto et al. (2011) ¹⁴⁷	18.20	Café molido	Sólido-Líquido

Acorde con los resultados presentados en la tabla 15, es pertinente decir que el cambio de solvente para la extracción de polifenoles de café mediante la extracción asistida por ultrasonido permitió obtener una concentración mayor a la alcanzada en la primera fase, aumentando 4.52 veces la cantidad de polifenoles totales presentes en el extracto. Esto se debe, como se mencionó inicialmente, al cambio de solvente, así como el grado de maduración del café y la frecuencia utilizada en el ultrasonido.

Por otra parte, Mullen realizó la extracción de polifenoles del fruto de café completo, así como en la metodología implementada en el proyecto, y obtuvo una concentración 1.3 veces menor. Así mismo, las concentraciones reportadas por los demás autores, exceptuando el estudio realizado por Xu, resultaron ser menores. En cuanto a los resultados obtenidos en la investigación realizada por Xu, si bien son los mejores, el método utilizado aún no cuenta con un escalamiento industrial.

46(4):406-409. <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10826068.2015.1084514>. doi: 10.1080/10826068.2015.1084514.

¹⁴⁵ XU, H., WANG, W., LIU, X, YUAN, F., GAO, Y. (2015). Antioxidative phenolics obtained from spent coffee grounds (*coffea arabica* L.) by subcritical water extraction. *Industrial Crops and Products*. 76(Supplement C):946-954. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669015302788>. doi: //doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.054.

¹⁴⁶ MULLEN, W., NEMZER, B., STALMACH, A., ALI, S., COMBET, E. Op. cit.

¹⁴⁷ MUSSATTO, S. I., BALLESTEROS, L. F., MARTINS, S., & TEIXEIRA, J. A. Op. cit.; p. 173-179.

5. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD COAGULANTE

Al finalizar la fase pre experimental, se repitieron los procedimientos descritos en el capítulo 5, siguiendo la misma metodología; fueron realizadas 16 extracciones consecutivas para obtener un litro de polifenoles con una concentración final del 100%, concentración que supera a las reportadas en estudios previos como se evidencia en la tabla 15.

Así como en el anterior experimento, para la determinación de la actividad coagulante, fue esencial realizar una pre experimentación para verificar el rango de pH al que el coagulante mostraba un mejor rendimiento.

5.1 PRE EXPERIMENTACIÓN

5.1.1 Preparación del agua patrón. Para probar la efectividad del coagulante natural obtenido a partir de residuos de café extraídos por el método asistido por ultrasonido, fue preparada una muestra de agua; teniendo en cuenta investigaciones anteriores, la concentración del agua fue determinada^{148,149}. En un litro de agua destilada se realizó una solución de 5000ppm de caolín, previniendo que existiera la presencia de otros compuestos. El agua fue preparada con un día de anterioridad; transcurrido este tiempo, la turbidez de la muestra fue de 520.90 NTU y tenía un pH de 7.32.

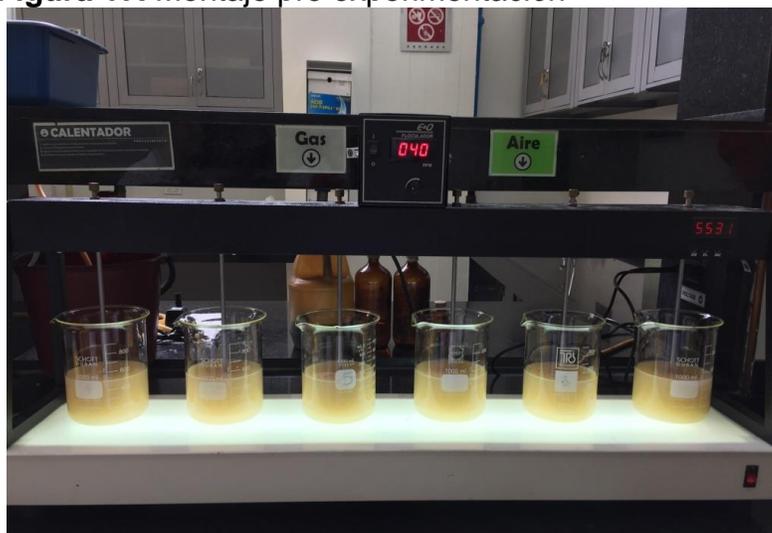
5.1.2 Control y ajuste del pH. Previo a la realización de los experimentos, se hicieron 10 pruebas en el test de jarras a la misma concentración de polifenoles, sin embargo, el pH del agua fue modificado con el fin de verificar a qué valores era eficiente el coagulante y delimitar el rango de operación para las pruebas. Se tomaron entonces valores desde 3.00 hasta 12.00 en muestras de agua patrón de 500ml, en las que se modificó el pH con hidróxido de sodio 1M para los valores básicos y ácido clorhídrico 1M para los ácidos; utilizando un floculador digital F6-300T, se inició la etapa de mezcla rápida (100rpm y 1 minuto) para que el coagulante fuera distribuido en la muestra. Es importante tener cuenta que la dosificación del coagulante fue realizada con jeringas para minimizar los errores producidos por las pipetas. Al finalizar la etapa de mezcla rápida, se disminuyó la velocidad de mezclado a 40rpm y permaneció así durante 30 minutos¹⁵⁰.

¹⁴⁸ MILLER, S., FUGATE, E., CRAVER, V., SMITH, J., & ZIMMERMAN, J. Op. cit.; p. 4274-4279.

¹⁴⁹ OKUDA, T., BAES, A. U., NISHIJIMA, W., & OKADA, M. Op. cit.; p. 3373-3378.

¹⁵⁰ GUZMÁN, L., TARON, A. A., NÚÑEZ, A. (2015). Polvo de la semilla cassia fistula como coagulante natural en el tratamiento de agua cruda. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. 13(2):123-129. <https://doaj.org/article/555548d245a54070b693ebb83149364a>. doi: 10.18684/BSAA(13)123-129.

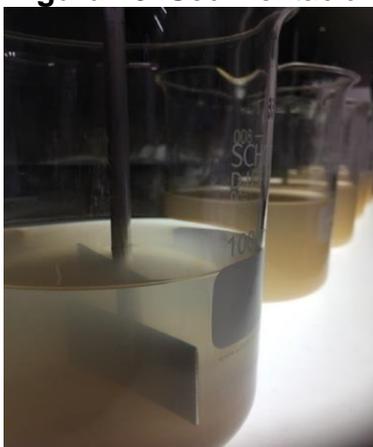
Figura 17. Montaje pre experimentación



Para la sedimentación, las muestras fueron dejadas durante dos horas y al terminar el tiempo, se tomaron muestras para que la turbidez pudiera ser leída en el turbidímetro Turbiquant 1100 IR; el protocolo para tomar los valores de turbidez se encuentra en el anexo D, y su debida calibración está descrita en el anexo G.

A partir del experimento, es posible notar que el menor valor de turbidez presentado fue de 49.33 NTU a un pH ácido; en la figura 18 se puede apreciar el resultado pasado el tiempo de sedimentación una vez realizado el procedimiento del test de jarras.

Figura 18. Sedimentación



5.2 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD COAGULANTE

Así como se realizó el estudio anterior, se realizaron 4 experimentos, cada uno con su réplica, en los cuales se variaba el pH del agua a tratar y la concentración de coagulante a aplicar.

5.2.1 Dosificación del coagulante. En la coagulación, la dosis es un factor importante ya que determina la cantidad de coagulante que se debe aplicar a cierta muestra de agua para que ésta presente una reducción en la turbidez final del agua tras haber realizado el proceso. Al no conocer el comportamiento del coagulante obtenido, además de no tener referencias bibliográficas acerca del mismo, se optó por tomar 4 niveles del factor concentración, siendo el 100% la concentración inicial, seguido del 75%, 50% y 25%, realizando las diluciones con agua.

5.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los datos obtenidos en las pruebas del test de jarras se realiza con el fin de establecer la importancia que tiene cada factor o interacción que hay entre ellos, frente a la turbidez final del agua sintética tratada. Estos dos factores fueron la concentración del coagulante en partes por millón agregados a la muestra de agua patrón y el rango de operación de pH¹⁵¹, en la tabla 16 se presentan los resultados obtenidos en el método de jarras. Como se evidencia, a un pH ácido 1 y una concentración de polifenoles de 75% se presenta el menor valor de turbidez final (0.32 NTU). En seguida, con la ayuda del software STATA, se realizó el análisis de varianza de dos vías con los datos obtenidos.

Tabla 16. Turbidez final

Concentración Polifenoles	Turbidez final (NTU)			
	pH			
	pH ácido 1	pH ácido 2	pH ácido 3	pH ácido 4
100%	4.65	1.09	19.71	102.80
	3.71	1.17	22.93	99.34
75%	0.32	2.51	74.64	146.50
	0.94	2.96	12.27	141.20
50%	1.66	0.88	8.36	281.40
	1.54	0.70	9.19	248.10
25%	2.35	3.42	12.66	89.01
	2.88	4.26	11.93	66.41

¹⁵¹ ÁLVAREZ CÁCERES, R. Op. cit.

En el software STATA, se utilizó el modelo ANOVA de dos vías, con un nivel de significancia del 95% manejado en el software; en la figura 19, se obtuvieron los datos de la suma de cuadrados parciales, tipo III, puesto que no hay pérdida de casillas o datos y se descompone la variabilidad de la turbidez debido a la contribución de cada factor, medido por la eliminación de los efectos de estos mismos; también se obtiene el de las medias cuadráticas, que con el cociente de estos dos se obtiene el valor del estadístico F acompañado del valor de significancia o de probabilidad, el cual se compara con el nivel de significancia el cual si es mayor a 0.05, la hipótesis nula no se rechaza.

Figura 19. Tabla ANOVA para los resultados de reducción de Turbidez

Source	Partial SS	df	MS	F	Prob > F
Model	159643.334	15	10642.889	61.22	0.0000
ppm_polif~s	9387.86357	3	3129.28786	18.00	0.0000
ph	116587.016	3	38862.3388	223.54	0.0000
ppm_polif~s#ph	33668.4545	9	3740.93939	21.52	0.0000
Residual	2781.61899	16	173.851187		
Total	162424.953	31	5239.51462		

Considerando los valores obtenidos de P correspondientes a la significancia del estudio, es posible determinar que, tanto los efectos principales como la interacción entre ellos, tienen un efecto relevante sobre la turbidez, puesto que los valores están por debajo del 0.05, así mismo, se puede concluir que la hipótesis nula se puede rechazar, aprobando la hipótesis H_1 y cada uno de los experimentos arroja valores que no pueden ser excluidos del análisis.

5.4 ANÁLISIS DE RESULTADOS

Para el cálculo del porcentaje de remoción y la actividad coagulante, fueron empleadas las ecuaciones 4.1 y 4.2 respectivamente, teniendo en cuenta que la turbidez inicial del agua patrón fue de 520.90 NTU y la turbidez del blanco fue de 486.14 ± 0.0 NTU. Los resultados se presentan a continuación en la tabla 20 para el porcentaje de remoción de turbidez, siendo los porcentajes mayores, los correspondientes al mejor resultado presentado por el coagulante natural.

Tabla 17. Porcentajes remoción de turbidez para cada experimento

Dosis coagulante	pH			
	pH ácido 1	pH ácido 2	pH ácido 3	pH ácido 4
100%	99.29%	99.79%	96.22%	80.93%
75%	99.94%	99.52%	97.64%	72.89%
50%	99.70%	99.87%	98.40%	52.37%
25%	99.55%	99.34%	97.71%	82.91%

Así mismo, en la tabla 18 se muestran los resultados de la actividad coagulante para cada experimento realizado.

Tabla 18. Actividad coagulante

Dosis coagulante	pH			
	pH ácido 1	pH ácido 2	pH ácido 3	pH ácido 4
100%	99.24%	99.78%	95.95%	78.85%
75%	99.93%	99.48%	84.65%	70.95%
50%	99.68%	99.86%	98.28%	48.97%
25%	99.52%	99.30%	97.55%	86.34%

Se puede detallar que el mayor porcentaje se obtuvo a un pH ácido 1 y 75% con un valor del 99.94% y 99.93% para la remoción de turbidez y la actividad coagulante respectivamente. Cabe señalar, que la condición de pH con mayor índice de remoción es el de pH ácido 1 y el menos favorable con un 52% de diferencia con un pH ácido 4.

En la figura 20 se puede observar el experimento realizado con una concentración del 75%; de izquierda a derecha se encuentran las jarras de pH ácido 1, 2, 3 y 4.

Figura 20. Test de jarras 75%



Incluso antes de realizar la lectura de la turbidez, la remoción en las jarras 1 y 2 es axiomática, ya que se puede apreciar en el fondo la arcilla, además del cambio en el color del agua.

Según el porcentaje de remoción obtenido por otros autores, se puede definir qué tan efectivo es el coagulante con respecto a los otros coagulantes naturales. En la tabla 19 se encuentran el porcentaje y la naturaleza del coagulante natural a comparar.

Tabla 19. % Remoción

Autor	Fuente	% Remoción
Patale, et. al (2012) ¹⁵²	<i>Coccinia indica</i>	94%
Anastasakis, (2009) ¹⁵³	Seed pods	93-97.3%
Gunaratna, (2007) ¹⁵⁴	<i>Phaseolus angularis</i>	45-50%
Sciban, et al (2005) ¹⁵⁵	<i>Phaseolus vulgaris</i>	>75%
Marobhe (2007) ¹⁵⁶	<i>Vigna unguiculata</i>	80%

¹⁵² PATALE, V., PANDYA, J. (2012). Mucilage extract of coccinia indica fruit as coagulant-flocculent for turbid water treatment. *Asian Journal of Plant Science and Research*. 2(4).

¹⁵³ ANASTASAKIS, K., KALDERIS, D., DIAMADOPOULOS, E. (2009). Flocculation behavior of mallow and okra mucilage in treating wastewater. *Desalination*. 249(2):786-791. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0011916409008935>. doi: //doi.org/10.1016/j.desal.2008.09.013.

¹⁵⁴ GUNARATNA, K. R., GARCIA, B., ANDERSSON, S., DALHAMMAR, G. (2007). Screening and evaluation of natural coagulants for water treatment. *Water Science & Technology: Water Supply*.;7(5-6):19. <https://search.proquest.com/docview/1943162594>. doi: 10.2166/ws.147.

¹⁵⁵ SCIBAN, M., KLASNJA, M., STOJIMITOVIC, J. (2005). Investigation of coagulation activity of natural coagulants from seeds of different leguminose species. *Acta periodica technologica*. (36):81-90. <https://doaj.org/article/bafdc44303c04ebf807664ddc30f2577>. doi: 10.2298/APT0536081S.

¹⁵⁶ MAROBHE, N. J., DALHAMMAR, G., GUNARATNA, K. R. (2007). Simple and rapid methods for purification and characterization of active coagulants from the seeds of vigna unguiculata and

Ninguno de los porcentajes de remoción de turbidez supera el 97.3%; es claro que el porcentaje de remoción obtenido tras realizar los ensayos de jarras resulta ser mejor, comprobando que los polifenoles extraídos a partir de residuos de café son efectivos como coagulantes en el agua, teniendo presente que su porcentaje de remoción fue del 99.94%.

5.5 COMPARACIÓN DE LA TURBIDEZ RESULTANTE CON LA NORMATIVA

En la Resolución 2115 del 22 de junio de 2007 se señalan características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano¹⁵⁷; en el capítulo II, artículo 2, establecen las características físicas del agua potable; las unidades nefelométricas de turbidez tienen un valor máximo aceptable de 2. Tomando los resultados arrojados, 8 de los 32 experimentos cumplen la normativa, lo cual significa que podría ser consumida una vez se le realicen otra serie de pruebas para que cumpla con todas las especificaciones.

5.6 COMPARACIÓN DEL COAGULANTE NATURAL CON EL COAGULANTE METÁLICO

Para evaluar la efectividad del coagulante natural obtenido, es ineludible hacer una comparación con un coagulante que sea utilizado en la industria. El sulfato de aluminio es uno de ellos, sin embargo, el lodo producido por este coagulante es el más difícil de tratar puesto que al finalizar el tratamiento del agua, se da la precipitación en hidróxido de aluminio¹⁵⁸. Utilizando un coagulante natural, los lodos producidos tras el tratamiento no contendrían trazas de metales, lo cual no conllevaría a la precipitación de los mismos, siendo el tratamiento de estos lodos menos complicado.

El experimento fue realizado con las mismas condiciones operacionales que los realizados con el coagulante natural. Una vez pasado el tiempo de sedimentación se obtuvo una turbidez de 6.81 NTU, con la que fueron calculados la actividad coagulante y el porcentaje de remoción (tabla 20). Aunque el sulfato de aluminio posee varios valores de pH a los cuales remueve la turbidez del agua, se optó por

parkinsonia aculeata. *Environmental Technology*
28(6):671. <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09593332808618827>. doi:
10.1080/09593332808618827.

¹⁵⁷ Ministerio de la Protección Social, Ministerio De Ambiente, Vivienda Y Desarrollo Territorial. Op. cit.

¹⁵⁸ ÖZACAR, M., & ŞENGİL, I. A. (2000). Effectiveness of tannins obtained from valonia as a coagulant aid for dewatering of sludge. *Water Res.* 34(4):1407-1412.

un valor que fuera cercano al pH utilizado con el coagulante natural y así poder comparar los resultados obtenidos.

**Tabla 20. Resultados coagulante metálico
Sulfato de aluminio**

Actividad coagulante	98.60%
% Remoción	98.69%

Si bien la turbidez no cumple con la normativa, el porcentaje de remoción fue del 98.69% y la actividad coagulante 98.60%. El mejor resultado obtenido con el coagulante natural se presentó a un pH ácido y una concentración del 75%, con resultados de porcentaje de remoción y actividad coagulante de 99.94% y 99.93% respectivamente. La diferencia entre los porcentajes obtenidos con el coagulante metálico y el coagulante natural es significativa, ya que con una actividad coagulante del 98.60% no se cumple la normativa y por tanto se necesitará un tratamiento posterior.

En cuanto al % de remoción, la diferencia entre ambos coagulantes fue del 1.25%, y la diferencia de la actividad coagulante del 1.34%. Aunque parezcan poco significativas, el rendimiento del coagulante natural fue mejor, con una dosis de 5ml de la cual el 25% era agua. La sustitución del coagulante metálico por un coagulante natural con las condiciones de operación empleadas para los experimentos, es viable para el tratamiento de una muestra de agua preparada en el laboratorio, ya que reduce la turbidez de la muestra por encima del 99%, manteniendo la turbidez por debajo de 2 NTU; tomando en cuenta el rendimiento presentado por el coagulante metálico, la dosis de coagulante debe ser ajustada para lograr incrementar la actividad coagulante y el índice de remoción, así como reducir la turbidez final de la muestra, con el fin de evitar realizar un segundo tratamiento; es claro que ajustar el pH representa una alternativa, no obstante, los resultados no serían comparables al trabajar con valores de pH muy diferentes.

6. COMPARACIÓN DE COSTOS

Para establecer el costo de venta del coagulante natural que se produjo a nivel laboratorio, es requerido evaluar las materias primas necesarias para el proceso, así como los equipos y la mano de obra. Estos datos serán cruciales para tomar decisiones en el escalamiento del proceso, puesto que generarían reducciones de costos, tomando en cuenta los tiempos de operación. Debe recalarse que el escalamiento no se realizará hasta probar el coagulante con muestras de agua natural, determinando la dosis óptima del coagulante y probando otros valores de pH para la operación; en esta fase, el análisis de costos se realizó con el fin de determinar el costo de producción del coagulante natural a nivel de laboratorio y compararlo con el costo del coagulante metálico, además no son incluidos los costos que representan el tratamiento de agua.

Inicialmente, se estipulan las materias primas, aquellas que representan costos variables en el análisis, ya que, a mayor producción de coagulante, se requerirán en mayor parte; no obstante, la plantilla de costos fue efectuada de tal forma que pudiera calcularse el costo por litro de coagulante producido. Un aspecto por resaltar es que al final del ciclo productivo puede que sobren materias primas, las cuales pueden ser reutilizadas, generando menos costos. El café verde representa el principal insumo para la producción del coagulante natural, si bien no presenta un costo de venta, es necesario tener en cuenta el transporte y conservación del mismo, sin embargo, es recomendable utilizar el café verde lo antes posible. Adicionalmente, es necesario tener en cuenta los factores no controlados del insumo; la concentración de polifenoles no será la misma en los diferentes estados de maduración del café, es por esto que en el capítulo 4 se determinó que el café verde debía ser usado en lugar del café pintón, maduro y sobremaduro, además, debe ser refrigerado y evitar que se descomponga.

Se debe especificar la cantidad necesaria para el proceso, para así poder relacionarla con el costo de venta del fabricante. Se presentan los costos de las materias primas utilizadas en el proyecto de investigación. Por otra parte, se encuentra el alquiler de equipos; la producción del coagulante fue en escala laboratorio y es por esto que estipular el costo de producción mediante el alquiler resulta ser una opción económica, evitando la pérdida de dinero por depreciación y pago de impuestos al realizar una supuesta inversión para la compra de los equipos.

Es claro que la especificación de las horas requeridas para cada equipo debe estar determinada para evaluar el costo de cada proceso y no pagar horas en las que no haya producción o se presenten horas muertas, cabe señalar que al alquilar los equipos, los costos de agua y energía se encuentran incluidos. Otro aspecto importante a evaluar es la mano de obra del operario a cargo de los procesos de

laboratorio; los costos de los equipos de ultrasonido y evaporador estipulados anteriormente incluyen el costo por hora de servicio, sin embargo, la contratación de un técnico u operario capacitado en espectrofotometría es necesaria.

De ser necesario, se puede proponer la contratación de más personal si la producción llegase a incrementarse.

Así como se mencionó anteriormente, la revisión del inventario puede significar una reducción en el costo de producción, ya que todo aquello que no se use o siga sirviendo no generará un costo a futuro.

Considerando que en el proceso de producción del coagulante se recupera un 70% de etanol, se reduce notablemente el costo final, así mismos lo hacen los insumos y reactivos que no fueron utilizados en su totalidad. La principal ventaja e realizar el inventario final es que todo lo que sobró no generará pérdidas, ya que se reutiliza, ya sea para la producción del coagulante u otro proceso.

Figura 21. Precio de venta

Costo de venta				
<i>Materia prima</i>	<i>Alquiler</i>	<i>Mano de obra</i>	<i>Inventario final</i>	<i>Costo bruto</i>
\$ 109,062	\$ 159,017	\$ 8,800	\$ 51,991	\$ 224,889
<i>Margen de ganancia bruto</i>				<i>Precio de venta</i>
0.15				\$ 264,575
				<i>Utilidad bruta</i>
				\$ 39,686

Finalmente, para calcular el precio de venta del producto final, es necesario primero calcular el costo bruto del coagulante, es decir, el valor neto de producción.

Ecuación 4. Determinación del costo bruto del coagulante

$$\text{Costo bruto} = \text{Materia prima} + \text{Alquiler} + \text{Mano de obra} - \text{Inventario final}$$

Estableciendo el costo bruto, que en este caso fue de \$224,889, puede determinarse el margen de ganancia bruto, que es el porcentaje que queda después de realizar la venta; con este margen se puede determinar el precio de venta del coagulante.

Ecuación 5. Precio de venta

$$\text{Precio de venta} = \frac{\text{Costo bruto}}{1 - \text{margen de ganancia bruto}}$$

Entonces, el precio de venta del coagulante natural obtenido a partir de residuos de café tiene un precio de venta por litro de \$264,575 con una utilidad bruta de \$39,686, la cual resulta de la resta entre el precio de venta y el costo bruto.

Ahora bien, para obtener un litro de sulfato de aluminio, un coagulante metálico comercial, es necesario preparar una solución con este reactivo y agua destilada. Según referencias bibliográficas¹⁵⁹, la concentración debe ser de 60g/l.

Figura 22. Precio de venta del coagulante metálico

<i>Reactivos</i>		<i>Cantidad</i>		<i>Costo Final</i>
Sulfato de aluminio	\$ 1,546	60 Gramos		\$ 92,732
Agua destilada	\$ 2,300	1 Litro		\$ 2,300
<i>Precio de venta</i>				\$ 95,032

Considerando ambos precios de venta, es incuestionable que la adquisición del coagulante metálico es mejor en términos de costos ya que es el más económico, sin embargo, cabe realizar una comparación entre la cantidad necesaria para tratar una muestra de agua y el costo que esto implica.

En el capítulo anterior, los resultados en cuanto al % de remoción y actividad coagulante de cada uno fueron determinados. Con esos resultados puede concluirse que es necesario aumentar la dosis de coagulante metálico debido a que fueron menores en comparación con el coagulante natural en un 1.25% y 1.34% respectivamente; así pues, si se adquiere un litro de coagulante obtenido de los polifenoles extraídos de café y se aplica una dosis de 5ml al 75%, se podrían tratar aproximadamente 133 litros de agua, ya que solo son necesarios 3.75ml para remover el 99.94% de la turbidez del agua; incluso, si se reduce la concentración al 50%, podrían tratarse 200 litros de agua removiendo el 99.87% de la turbidez. En cambio, con la adquisición del litro de sulfato de aluminio la cantidad máxima que podría ser tratada serían 100 litros de agua, con una remoción del 98.69%, ya que, para disminuir aún más la turbidez, se requeriría aumentar la dosis.

¹⁵⁹ ROMERO ROJAS, J. A. Op. cit.; p. 231-420.

7. CONCLUSIONES

- Para determinar la acción coagulante de los polifenoles extraídos del café fue necesario realizar una pre experimentación para corroborar el solvente a usar en el método de ultrasonido; se siguió la recomendación dada por Aponte y Palomino de probar la inactivación de la actividad enzimática y se decidió bajar el pH de la solución obtenida. La mezcla de agua-acetona obtuvo 2.47 veces más polifenoles que la modificada con ácido acético, caso similar con el etanol, con el que se obtuvo 1.16 veces más sin la modificación del pH. La realización de una pre experimentación permitió corroborar los datos obtenidos en la investigación anterior (Fase I) e identificar las fallas cometidas para escoger el proceso con el que se obtuviera una mayor extracción de polifenoles; uno de los principales errores se vio reflejado en el uso del baño ultrasónico ya que la frecuencia manejada en la primera fase no era la máxima, lo que conllevaba a bajos rendimientos de extracción.
- Según el balance de materia de los sólidos, se espera que lo que entró al proceso de extracción, en términos de la muestra de café, debe ser igual a los sólidos que se filtran y los presentes en el sobrenadante, sin embargo, se pudo observar que hubo una disminución en el peso final de la muestra en comparación con la inicial; esto se debe a las mermas en el paso de filtrado, por las partículas que quedan adheridas a los materiales del laboratorio como el kitasato, así como en los envases de almacenamiento. Otro factor que puede influenciar dicha disminución radica en los polifenoles extraídos, ya que estos hacen parte de la matriz sólida y posterior a la extracción se retiran de ésta; se puede notar también que el experimento de etanol-agua presentó una mayor disminución del peso que los otros experimentos, explicando su efectividad para la extracción de polifenoles.
- Para la determinación de la actividad coagulante de los polifenoles, inicialmente fue seleccionado un rango de operación del pH; teniendo en cuenta los valores de turbidez, se escogió un rango ácido, pues en esos experimentos la turbidez se redujo hasta un 90.53%. Cabe resaltar que en valores de pH básicos también se obtuvo una reducción significativa de la turbidez, donde la turbidez final fue de 196.90NTU, no obstante, no fue satisfactoria para hacer de esta un resultado comparable para la experimentación y la actividad coagulante frente a un coagulante metálico. Tras finalizar la extracción, filtración y recuperación del solvente, fue posible decretar la actividad coagulante de los polifenoles extraídos del café, realizando el test de jarras. Aplicando una concentración del 75% en una muestra de agua con un pH ácido, se redujo la turbidez en un 99.94% con una actividad coagulante de 99.93%, siendo éste el mejor resultado obtenido.

Se lograron obtener muestras después del tratamiento, que cumplían con la Resolución 2115 de 2007, la cual dictamina que el nivel de turbidez debe estar por debajo de 2 NTU.

- Fue posible realizar la comparación de la actividad coagulante de los polifenoles extraídos frente a la del sulfato de aluminio, el coagulante metálico mayormente utilizado en el tratamiento de agua, donde se obtuvo que, al utilizar la misma dosificación, pero con la concentración del sulfato según bibliografía (60g/l), el porcentaje de actividad coagulante es menor un 1.34% que el obtenido con el coagulante natural a un pH ácido y una dosificación del 75%.
- Finalmente, la comparación del precio de venta del coagulante metálico, frente al obtenido de los residuos de café en litros, solo llega a ser una aproximación, ya que los valores que se toman en cuenta son a nivel laboratorio del coagulante natural, sabiendo que la producción de sulfato de aluminio es a escala industrial. Esto sucede porque no existe una ingeniería conceptual de la extracción de los polifenoles del café, que permita evaluar certeramente la viabilidad económica y técnica del proyecto.

8. RECOMENDACIONES

- Las muestras una vez extraídas deben almacenarse en envases de vidrio color ámbar y en el refrigerador, ya que la luz puede afectar las lecturas de absorbancia al momento de cuantificar; así mismo, las muestras no pueden durar más de una semana debido a que la enzima polifenol oxidasa puede activarse y oxidar los polifenoles.
- Tras realizar el proceso de extracción, la eliminación de azúcares sería prudente ya que se comprobaría si la actividad del coagulante es mejorada sin estos compuestos.
- Al momento de rotoevaporar es necesario conocer las condiciones de funcionamiento para cada solvente y así evitar procedimientos erróneos o pérdida de materiales valiosos en la extracción.
- Las muestras de café no deben presentar una coloración marrón, ya que al estar descompuestas no se obtienen los rendimientos esperados de extracción.
- Para próximas investigaciones es aconsejable realizar una caracterización del extracto, utilizando técnicas como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con el fin de conocer con certeza la composición de los polifenoles extraídos y determinar el mecanismo de coagulación que éstos presentan.
- El extracto que se va utilizar en el método del test de jarras no debe tener más de una semana después de haber realizado la extracción, puesto que su funcionamiento no es el esperado.
- Para la variación del pH en las muestras de agua a analizar, se recomienda utilizar disoluciones buffer o tampón ya que permiten mantener estable el pH frente a la adición de cantidades pequeñas de bases o ácidos.
- Se recomienda hacer una variación en la dosificación del coagulante natural agregada en las jarras, evaluando si los 5ml utilizados son la mínima dosis efectiva de coagulación.
- Determinar el costo de la incertidumbre del proceso una vez se haga la ingeniería conceptual del proceso para el escalamiento de la producción del coagulante natural a partir de residuos de café.

BIBLIOGRAFÍA

ABAD-GARCÍA, B., BERRUETA, L. A., LÓPEZ-MÁRQUEZ, D. M., CRESPO-FERRER, I., GALLO, B., & VICENTE, F. *Optimization and validation of a methodology based on solvent extraction and liquid chromatography for the simultaneous determination of several polyphenolic families in fruit juices*. 2007. doi://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.03.023

AL-DHABI, N. A. PONMURUGAN, K., MARAN JEGANATHAN, P. Development and validation of ultrasound-assisted solid-liquid extraction of phenolic compounds from waste spent coffee grounds. *Ultrasonics Sonochemistry*. 34(Supplement C):206-213. 2017. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1350417716301468>. doi: //doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.05.005.

ÁLVAREZ CÁCERES, R. *Estadística multivariante y no paramétrica con SPSS: aplicación a las ciencias de la salud*. 1994. Madrid: Ediciones Díaz de Santos. Retrieved from <http://ebookcentral.proquest.com/lib/biblioamericasp/detail.action?docID=3175367>

American Water Works Association, (AWWA), American Public Health Association, (APHA), & Water Pollution Control Federation, (WPCF). *Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales*. 1992. Ediciones Díaz de Santos.

ANASTASAKIS, K., KALDERIS, D., DIAMADOPOULOS, E. Flocculation behavior of mallow and okra mucilage in treating wastewater. *Desalination*. 2009. 249(2):786-791. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0011916409008935>. doi: //doi.org/10.1016/j.desal.2008.09.013.

APONTE, C., PALOMINO, M. *Separación de polifenoles a partir de los residuos de café para evaluar su aplicabilidad como parte de un coagulante*. 2017. Fundación Universidad de América de Bogotá.

ARBOLEDA VALENCIA, J. *Teoría y práctica de la purificación del agua* (3rd ed.). 2000. Bogotá, Colombia: Mc Graw Hill.

ARCILA, J. Crecimiento y desarrollo de la planta de café. *Sistemas de producción de café, crecimiento y desarrollo de la planta de café*. 2011.

ARNOLD, A. *Evaluation and quantification of engineered flocs and drinking water treatability* Available from Dissertations & Theses @ Library and Archives Canada. 2008. Retrieved from <http://search.proquest.com/docview/304822080>

BALLESTEROS, L.F., RAMIREZ, M. J., ORREGO, C. E., TEIXEIRA, J. A., MUSSATTO, S. I. Optimization of autohydrolysis conditions to extract antioxidant

phenolic compounds from spent coffee grounds. *Journal of Food Engineering*. 2017. 199:1-8. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2016.11.014.

BRAVO, J., MONENTE, C., JUÁNIZ, I., DE PEÑA, M. P., & CID, C. Influence of extraction process on antioxidant capacity of spent coffee. *Food Research International*, 2013. 50(2), 610-616. doi:10.1016/j.foodres.2011.04.026

Centro Nacional de Investigaciones de Café. Manejo de Subproductos. 2016. En línea

http://www.cenicafe.org/es/index.php/cultivemos_cafe/manejo_de_subproductos/cultivemos_cafe_manejo_de_subproductos

CHEMAT, F., ZILL-E-HUMA, & KHAN, M. K. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics - Sonochemistry*, 2011. 18(4), 813-835. doi:10.1016/j.ultsonch.2010.11.023

CLIFFORD, M. N., & RAMIREZ-MARTINEZ, J. R. Phenols and caffeine in wet-processed coffee beans and coffee pulp. *Food Chemistry*, 1991. 40(1), 35-42. doi:10.1016/0308-8146(91)90017-I

COLOMBIA, & MINISTERIO DE VIVIENDA. Título C sistemas de potabilización ; 2010. In A. Vargas (Ed.), Reglamento técnico del sector de agua potable y saneamiento básico (). Bogotá D.C.:

CONDE, T., MUSSATO, S. I. Isolation of polyphenols from spent coffee grounds and silverskin by mild hydrothermal pretreatment. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*. 2016. 46(4):406-409. <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10826068.2015.1084514>. doi: 10.1080/10826068.2015.1084514.

COSTA, A. S. G., ALVES, R. C., VINHA, A. F., BARREIRA, S. V. P., NUNES, M. A., CUNHA, L. M., & OLIVEIRA, M., BEATRIZ, P. P. Optimization of antioxidants extraction from coffee silverskin, a roasting by-product, having in view a sustainable process. *Industrial Crops and Products*, 53(Supplement C), 2014. 350-357. doi:10.1016/j.indcrop.2014.01.006

CRITTENDEN, J. C., HAND, D. W., HOWE, K. J., TCHOBANOGLOUS, G., & TRUSSELL, R. R. *MWH's water treatment*. 2012. (3. Aufl. ed.) Wiley.

DE VARGAS, L. *Tratamiento de agua para consumo humano*. 2004. Lima, Perú: Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente.

DEMPSEY, B. A. Chapter 2: Coagulant characteristics and reactions. *Interface science and technology*. 2006. (pp. 5-24) Elsevier Science & Technology. doi:10.1016/S1573-4285(06)80071-2

DÍAZ, V. & VÁSQUEZ, E. Determinación de la composición y la capacidad antioxidante de aceites obtenidos por extracción con CO₂ supercrítico de granos de café con diferente grado de tuestión. 2011. Universidad Industrial de Santander

ESCOBAR, M. Extracción De Compuestos Fenólicos De Las Cáscaras De Cítricos Producidos En México. 2010.

ESQUIVEL, P., & JIMÉNEZ, V. M. *Functional properties of coffee and coffee by-products*. 2012. doi://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.05.028

FARAH, A., & DONANGELO, C. M. Phenolic compounds in coffee. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 2006. 18(1) Retrieved from http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1677-04202006000100003

FEDERACIÓN NACIONAL DE CAFETEROS DE COLOMBIA. Área cultivada.

FEDERACION NACIONAL DE CAFETEROS DE COLOMBIA. El árbol y el entorno. Retrieved from http://www.cafedecolombia.com/particulares/es/sobre_el_cafe/el_cafe/el_arbol_y_el_entorno

FERNÁNDEZ JÁUREGUI, C. Encuentros sobre el agua. 2004. UNESCO ed. España: ; 4-14.

FLATEN, T. P. Aluminium as a risk factor in alzheimer's disease, with emphasis on drinking water. (2001). *Brain Research Bulletin*. 55(2):187-196. doi: PubMed.

FRANCA, A. S., OLIVEIRA, L. S., & FERREIRA, M. E. Kinetics and equilibrium studies of methylene blue adsorption by spent coffee grounds. *Desalination*, 2009. 249(1), 267-272. doi:10.1016/j.desal.2008.11.017

FRANCA, A., & OLIVEIRA, L. *Chemistry of defective coffee beans*. 2008. Belo Horizonte, Brasil: Nova Science Publishers.

FRANCA, A., & OLIVEIRA, L. *Coffee processing solid wastes: Current uses and future perspectives*. 2009. Belo Horizonte, Brasil: Nova Science Publishers.

GALANAKIS, C. M. *Handbook of coffee processing by-products*. 2017. US: Academic Press.

GARCÍA, A. *Marco conceptual sobre la influencia de la temperatura y la humedad relativa en la fermentación sólida del grano de café arábica sobre el contenido de ácido 5-o-cafeoilquinico*. 2016.

GEANKOPLIS, C. J. *Transport processes and unit operations*. 1993. (3. ed. ed.). Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall.

GILLESPIE, K. M., & AINSWORTH, E. A. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using folin-ciocalteu reagent. *Nature Protocols*, 2007. 2(4), 875-877. doi:10.1038/nprot.2007.102

GUERRERO, C. A. Inhibición de la actividad enzimática de la polifenol oxidasa extraída del banano (cavendish valery) mediante sistemas bifásicos acuosos con isoespintanol y ácido ascórbico. 2009.

GUNARATNA, K. R., GARCIA, B., ANDERSSON, S., DALHAMMAR. Screening and evaluation of natural coagulants for water treatment. *Water Science & Technology: Water Supply*; 2007. 7(5-6):19. <https://search.proquest.com/docview/1943162594>. doi: 10.2166/ws.147.

GUZMÁN, L., TARON, A. A., NÚÑEZ, A. Polvo de la semilla cassia fistula como coagulante natural en el tratamiento de agua cruda. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. 2015. 13(2):123-129. <https://doaj.org/article/555548d245a54070b693ebb83149364a>. doi: 10.18684/BSAA(13)123-129.

GUZMÁN, L., VILLABONA, Á., TEJADA, C., & GARCÍA, R. Reducción de la turbidez del agua usando coagulantes naturales: Una revisión. *U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*. 2013. 16(1):253-262.

HEEGER, A., KOSINKA-CAGNAZZO, A., CANTERGIANI, E., & ANDLAUER, W. Bioactives of coffee cherry pulp and its utilization for production of cascara beverage. *Food Chemistry*. 2017. 221:969-975. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.11.067.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TECNICAS Y CERTIFICACIÓN. Calidad del agua, demanda química de oxígeno (DQO). NTC 3629. Bogotá D.C.: El instituto, 2015.

_____. Calidad del agua, demanda bioquímica de oxígeno (DBO). NTC 3630. Bogotá D.C.: El instituto, 2014.

_____. Referencias bibliográficas. Contenido, forma y estructura. NTC 5613. Bogotá D.C.: El instituto, 2008. 33p. c.

_____. Documentación. Presentación de tesis, trabajos de grado y otros trabajos de investigación. NTC 1486. Bogotá D.C.: El instituto, 2008. 36p.

_____. Referencias documentales para fuentes de información electrónicas. NTC 4490. Bogotá D.C.: El instituto, 1998. 23p.

_____. Gestión ambiental. agua. procedimiento para el método de jarras en la coagulación-floculación del agua. NTC 3903. Bogotá D.C.: El instituto, 1996.

INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION. Total production by all exporting countries. 2017. En línea <http://www.ico.org/prices/po-production.pdf>

_____. Trade statistics tables. 2017. Retrieved from http://www.ico.org/trade_statistics.asp

JIN, W., YONG-MING, Z., YA-TING, T., CHUN-LIN, Y., & CHUN-YAN, G. Ultrasound-assisted extraction of total phenolic compounds from inula helenium. *TheScientificWorldJournal*, 2013, 157527. doi:10.1155/2013/157527

KISLIK, V. S. *Solvent extraction: Classical and novel approaches*. 2012. Amsterdam: Elsevier.

LEWIS, M. *Protocol estimation of the phenolic and other oxidation substrate content in extract using folin ciocalteau reagent*. 2012.

LONDOÑO, A., GIRALDO, G. I., & GUTIÉRREZ, A. A. *Métodos analíticos para la evaluación de la calidad fisicoquímica del agua*. 2010. Universidad Nacional de Colombia.

LONDOÑO, J., BRAVO, K. E., ZAPATA, P., & MUÑOZ, K. Caracterización preliminar del enzima polifenol oxidasa en frutas tropicales: implicaciones en su proceso de industrialización. *Scientia et Technica*, 2007. 1(33), 161-164. Retrieved from <http://dialnet.unirioja.es/servlet/oaiart?codigo=4814694>

LOPEZ, D. *Composición química y nutracéutica del residuo sólido del café (coffea arabica L) utilizado y la actividad de los productos de su fermentación colónica in vitro en un modelo de inflamación*. 2014. Universidad Autónoma de Querétaro.

MANACH, C., SCALBERT, A., MORAND, C., RÉMÉSY, C., & JIMÉNEZ, L. Polyphenols: Food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2004. 79(5), 727. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15113710>

MAROBHE, N. J., DALHAMMAR, G., GUNARATNA, K. R. Simple and rapid methods for purification and characterization of active coagulants from the seeds of vigna unguiculata and parkinsonia aculeata. *Environmental Technology* 2007. 28(6):671. <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09593332808618827>. doi: 10.1080/09593332808618827.

MAZZAFERA, P. Chemical composition of defective coffee beans. *Food Chemistry*, 1999. 64(4), 547-554. doi:10.1016/S0308-8146(98)00167-8

MEULLEMIESTRE, A., BREIL, C., ABERT-VIAN, M., & CHEMAT, F. *Modern techniques and solvents for the extraction of microbial oils* (1st ed. 2015 ed.). Cham: Springer. doi:10.1007/978-3-319-22717-7

MILLER, S., FUGATE, E., CRAVER, V. O., SMITH, J. A., & ZIMMERMAN, J. B. Toward understanding the efficacy and mechanism of opuntia spp. as a natural coagulant for potential application in water treatment. *Environmental Science & Technology*, 2008. 42(12), 4274-4279. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18605544>

MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL, MINISTERIO DE AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL. Resolución 2115 Características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano. 2007.

MULLEN, W., NEMZER, B., STALMACH, A., ALI, S., & COMBET, E. Polyphenolic and hydroxycinnamate contents of whole coffee fruits from china, india, and mexico. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013. 61(22), 5298. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23650984>

MUÑOZ, Ó. A., TORRES, G. A., NÚÑEZ, J. A., DE LA ROSA, L., RODRIGO, J., AYALA, J. F., & ÁLVAREZ, E. Nuevo acercamiento a la interacción del reactivo de folin-ciocalteu con azúcares durante la cuantificación de polifenoles totales. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 2017. 20(2), 23-28. Retrieved from <https://doaj.org/article/4b92983cad9846f9bb0467e9996ad387>

MUSSATTO, S. I., BALLESTEROS, L. F., MARTINS, S., & TEIXEIRA, J. A. Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. Separation and Purification Technology. 83(Supplement C): 2011. 173-179. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383586611005570>. Accessed Oct 11, 2017. doi: 10.1016/j.seppur.2011.09.036.

OJEDA BÁEZ, L. F. *Determinación de la eficiencia de las características coagulantes y floculantes del tropaeolum tuberosum, en el tratamiento del agua cruda de la planta de puengasí de la EPMAPS. 2012.*

OKUDA, T., BAES, A. U., NISHIJIMA, W., & OKADA, M. Improvement of extraction method of coagulation active components from moringa oleifera seed. *Water Research*. 1999. 33(15):3373-3378. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135499000469>. doi: 10.1016/S0043-1354(99)00046-9.

ÖZACAR, M., & ŞENGİL, I. A. Effectiveness of tannins obtained from valonia as a coagulant aid for dewatering of sludge. *Water Res.* 2000. 34(4):1407-1412.

PANUSA, A., ZUORRO, A., LAVECCHIA, R., MARROSU, G., & PETRUCCI, R. Recovery of natural antioxidants from spent coffee grounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013. 61(17), 4162-4168. doi:10.1021/jf4005719

PATALE, V., PANDYA, J. Mucilage extract of coccinia indica fruit as coagulant-flocculent for turbid water treatment. 2012. *Asian Journal of Plant Science and Research*. 2(4).

PATIÑO, M., PENCU, E., & VARGAS, U. Determinación del contenido de humedad en granos de café pergamino seco utilizando speckle dinámico. *Bioteconología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 2017. 14(2), 84-91. doi:10.18684/BSAA(14)84-91

PUERTA Q., G. I. Influencia de los granos de café cosechados verdes, en la calidad física y organoléptica de la bebida. 2000. *Cenicafé*, 51(2), 136-150.

PUERTA, G., & Cenicafé. Composición química de una taza de café. *Avances tecnológicos*. 2011.

QUIÑONES, M., MIGUEL, M., & ALEIXANDRE, A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular | The polyphenols, naturally occurring compounds with beneficial effects on cardiovascular disease. Retrieved from <http://hdl.handle.net/10261/101372>

RATHINAVELU, R., & GRAZIOSI, G. Posibles usos alternativos de los residuos y subproductos del café. *Organización Internacional del Café*. 2005.

RESTREPO OSORNO, H. A. *Evaluación del proceso de coagulación - floculación de una planta de tratamiento de agua potable*. 2009. Retrieved from <http://www.bdigital.unal.edu.co/877/>

RODRIGUEZ, J. P., LUGO, U., ROJAS, A. V., & MALAVER, C. Evaluación del proceso de la coagulación para el diseño de una planta potabilizadora. 2007. *Umbral Científico*, (11) Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30401102>

ROMERO ROJAS, J, A. *Calidad del agua*. 2009. 3rd ed. Colombia: Editorial Escuela Colombiana de Ingenieros; 231-420

SANGHI, R., BHATTACHARYA, B., & SINGH, V. Cassia angustifolia seed gum as an effective natural coagulant for decolourisation of dye solutions. *Green Chemistry*, 2002. 4(3), 252-254. doi:10.1039/b200067a

SCIBAN, M., KLASNJA, M., STOJIMITOVIC, J. Investigation of coagulation activity of natural coagulants from seeds of different leguminose species. *Acta periodica technologica*. 2005. (36):81-90. <https://doaj.org/article/bafdc44303c04ebf807664ddc30f2577>. doi: 10.2298/APT0536081S.

SHANG, Y., XU, J., LEE, W., UM, B. Antioxidative polyphenolics obtained from spent coffee grounds by pressurized liquid extraction. *South African Journal of Botany*. 2017. 109:75-80. doi: 10.1016/j.sajb.2016.12.011.

SINGLETON, V. L., ORTHOFER, R., & LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. 1999. *Methods in enzymology* (pp. 152-178) Elsevier Science & Technology. doi:10.1016/S0076-6879(99)99017-1

STEIMAN, S., MORRIS, J., & THURSTON, R. W. *Coffee: A comprehensive guide to the bean, the beverage, and the industry*. 2013. Lanham, Md: Rowman & Littlefield Publishers.

UNICEF. Agua y hambre: Cuatro cosas que necesitas saber. Retrieved from https://www.unicef.org/spanish/wash/3942_100695.html?utm_source=unicef_news_es&utm_medium=rss&utm_campaign=rss_link_es

UNIVERSIDAD EXPERIMENTAL DEL YARACUY. *Determinación del contenido de humedad de los alimentos*

VARGAS, G., & MAZON, B. Determinación de humedad en la pulpa de café. *Reviteca*, 2014. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/267338433>

WATSON, R. R. *Polyphenols in plants*. 2014. (1. ed. ed.). London [u.a.]: Acad. Press.

XU, H., WANG, W., LIU, X, YUAN, F., GAO, Y. Antioxidative phenolics obtained from spent coffee grounds (coffea arabica L.) by subcritical water extraction. *Industrial Crops and Products*. 76(Supplement C): 2015. 946-954. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669015302788>. doi: [//doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.054](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.054).

ZAMUDIO, J., CHAMORRO, D., MORENO, J., SOLAQUE, Ó., CAFIERO, A., & PALOMINO, E. Desarrollo de un floculante natural para el tratamiento de aguas superficiales en hogares del sector rural del municipio de fusagasugá. *Tecnología Y Productividad*, 2015. 71-83. Retrieved from <http://revistas.sena.edu.co/index.php/rtyp/article/view/248>

ZUORRO, A., & LAVECCHIA, R. Spent coffee grounds as a valuable source of phenolic compounds and bioenergy. *Journal of Cleaner Production*, 2012. 34, 49-56. doi:10.1016/j.jclepro.2011.12.003