



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

**Desarrollo de películas
biodegradables a base de pectinas
extraídas de los subproductos del
beneficio del café por hidrólisis ácida**

**Development of biodegradable films
based on pectins extracted from
coffee processing by-products by
acid hydrolysis**

Mario Alejandro Vallejos Jiménez

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ingeniería

Bogotá, Colombia

2022

**Desarrollo de películas
biodegradables a base de pectinas
extraídas de los subproductos del
beneficio del café por hidrólisis ácida**

**Development of biodegradable films
based on pectins extracted from
coffee processing by-products by
acid hydrolysis**

Mario Alejandro Vallejos Jiménez

Tesis de investigación presentada como requisito parcial para optar al título de:
Magíster en Ingeniería Química

Director (a):

Ph.D., Edith Marleny Cadena Chamorro

Línea de Investigación:

Bioprocesos Agroindustriales

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ingeniería

Bogotá, Colombia

2022

A mis papás,

*Quienes me enseñaron con su ejemplo que
con disciplina, constancia y amor se puede
lograr grandes metas.
gracias.*

Agradecimientos

Primeramente, a Dios por haberme permitido lograr una meta más en mi vida, un camino lleno de aprendizajes que atesoraré por siempre.

A mis padres, Felipe Vallejos y Paulina Isabel Jiménez gracias por darme la vida, por inculcarme de buenos valores, por sus sabios consejos que me enseñaron a que no hay soñador pequeño cuando el sueño es demasiado grande, gracias por siempre estar a mi lado, por su apoyo incondicional, por alentarme cada día a ser mejor hijo, hermano, tío, sobrino y amigo. Por ustedes, todo. A mis hermanos, por estar ahí en los momentos clave de mi vida, sus consejos tan acertados hacen de mí una mejor persona, los amo con locura.

A mi directora, Edith Marleny Cadena Chamorro, profesora de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín, gracias por darme la oportunidad de trabajar a su lado, su acertada dirección durante el desarrollo de la investigación fue muy enriquecedora.

A MINCIENCIAS por la financiación del proyecto “Valorisation of waste from Coffee supply chain in Colombia and UK to develop novel products” con CTO No. 543-2020 de la convocatoria Institutional Links – Newton Fund – 2019 a través del Fondo Nacional de Financiamiento para la Ciencia, la Tecnología y la Innovación “FRANCISCO JOSÉ DE CALDAS”.

A la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín, a la Institución Universitaria ITM y a la Universidad de York quienes contribuyeron al desarrollo de la investigación. Al igual que todas aquellas personas que apoyaron en el desarrollo y culminación de este proyecto, infinitas gracias.

Resumen

El aprovechamiento de los subproductos de la industria cafetera, como el mucílago y la pulpa, se muestra como alternativa para la obtención de compuestos de interés como la pectina, polímero ampliamente utilizado en la industria alimentaria gracias a su propiedad gelificante. El objetivo de este estudio es el desarrollo de películas biodegradables basadas en pectina de dichos subproductos, obtenidas mediante hidrólisis ácida con ácido cítrico, reforzadas con extracto de borra de café y celulosa bacteriana. El procesamiento del mucílago y la pulpa generó rendimientos de extracción de pectina en promedio de $10,98 \pm 0,28$ y $6,14 \pm 0,18$ %, caracterizándose por tener un contenido de metoxilo de $7,05 \pm 0,27$ y $4,85 \pm 0,26$ %, además de un grado de esterificación de $81,40 \pm 2,08$ y $72,74 \pm 0,32$ %, respectivamente. El desarrollo de películas reforzadas con celulosa y extracto de borra de café mostró resultados diferentes en función de las propiedades mecánicas y de solubilidad, obteniendo una resistencia a la tracción de $2,41 \pm 0,16$ y $3,41 \pm 0,78$ MPa y solubilidad de $63,52 \pm 4,25$ y $40,46 \pm 5,26$ %, en películas reforzadas basadas en pectina de mucílago y pulpa de café, respectivamente. Asimismo, se estimaron tiempos de biodegradabilidad en suelo de 3 y 16 días, siendo más estables las películas basadas en pectina de pulpa. Finalmente, la producción de películas a partir de pectina presente en estos subproductos se presenta como alternativa a un cambio progresivo de plásticos convencionales, proporcionando valor agregado a subproductos poco explorados.

Palabras clave: mucílago y pulpa, pectina, hidrólisis ácida, celulosa bacteriana, extracto de borra de café, grado de esterificación, biodegradabilidad.

Abstract

The use of coffee industry by-products, such as mucilage and pulp, is shown as an alternative for obtaining compounds of interest such as pectin, a polymer widely used in the food industry due to its gelling properties. The objective of this study is the development of biodegradable films based on pectin from these by-products, obtained by acid hydrolysis with citric acid, reinforced with spent coffee grounds extract and bacterial cellulose. The processing of mucilage and pulp generated pectin extraction yields averaging 10.98 ± 0.28 and 6.14 ± 0.18 %, characterized by methoxyl contents of 7.05 ± 0.27 and 4.85 ± 0.26 %, in addition to an esterification degree of 81.40 ± 2.08 and 72.74 ± 0.32 %, respectively. The development of films reinforced with cellulose and spent coffee grounds extract showed different results in terms of mechanical and solubility properties, obtaining a tensile strength of 2.41 ± 0.16 and 3.41 ± 0.78 MPa and solubility of 63.52 ± 4.25 and 40.46 ± 5.26 %, in reinforced films based on mucilage pectin and coffee pulp, respectively. Likewise, biodegradability times in soil of 3 and 16 days were estimated, being more stable the films based on pulp pectin. Finally, the production of films from pectin present in these by-products is presented as an alternative to a progressive change of conventional plastics, providing added value to little explored by-products.

Keywords: mucilage and pulp, pectin, acid hydrolysis, bacterial cellulose, spent coffee grounds extract, degree of esterification, biodegradability.

Contenido

	Pág.
1. Capítulo 1: Estado del arte	7
1.1 Producción de café.....	7
1.2 Subproductos generados en el beneficio del café	9
1.3 Pectinas	13
1.3.1 Localización, composición y estructura de la pectina.....	13
1.3.2 Clasificación según el grado de esterificación.....	17
1.4 Propiedades fisicoquímicas	19
1.5 Métodos de extracción	20
1.6 Aplicaciones y usos de la pectina.....	22
2. Capítulo 2: Materiales y Métodos	25
2.1 Obtención y preparación de la materia prima: mucílago y pulpa de café	25
2.2 Extracción de pectina en mucílago y pulpa: método de hidrólisis ácida.....	27
2.3 Caracterización fisicoquímica de la pectina	33
2.3.1 Peso equivalente, acidez libre y contenido de metoxilo	33
2.3.2 Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)	34
2.3.3 Análisis termogravimétrico (TGA)	35
2.3.4 Microscopía electrónica de barrido (SEM)	35
2.3.5 Cromatografía líquida de alta definición (HPLC)	36
2.4 Formulación y caracterización de películas a partir de pectina de mucílago y pulpa de café	36
2.4.1 Formulación de películas	36
2.4.2 Caracterización fisicomecánica de las películas	39
2.4.3 Biodegradabilidad de películas	41
3. Capítulo 3: Resultados y discusión	43
3.1 Extracción de pectina: efecto de los parámetros operacionales	43
3.1.1 Análisis fisicoquímico y estructural de la pectina.....	48
3.2 Desarrollo de películas a base de pectinas de mucílago y pulpa de café	58
3.2.1 Análisis fisicomecánico y estructural de las películas	61
3.2.2 Biodegradabilidad de las películas.....	75
4. Conclusiones y recomendaciones	91
4.1 Conclusiones.....	91
4.2 Recomendaciones.....	94

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1-1: Proceso del beneficio de café.....	8
Figura 1-2: Composición del fruto de café.	9
Figura 1-3: Subproductos generados en el beneficio de café: mucílago por fermentación natural (a); mucílago por desmucilaginado mecánico (b) y pulpa de café (c).....	11
Figura 1-4: Pergamino (a) y borra de café (b).....	11
Figura 1-5: Representación de los elementos estructurales de la pectina HG: Homogalacturano; RG-I: Rhamnogalacturonano I; XGA: Xylogalacturonano; RG-II: Rhamnogalacturonano-II; A: Arabinosa.	15
Figura 1-6: Segmento de la molécula de pectina.	16
Figura 1-7: Estructura molecular de pectina de alto metoxilo (HM).....	17
Figura 1-8: Estructura molecular de pectina de bajo metoxilo (LM).	18
Figura 2-1: Registro fotográfico de la periferia del municipio de Jardín, Antioquia.	25
Figura 2-2: Materias primas: mucílago y pulpa del beneficio de café.	26
Figura 2-3: Extracción de pectina por hidrólisis ácida (a); remoción de sólidos (b) y precipitación (c).	30
Figura 2-4: Purificación (a), secado (b) y almacenamiento (c) de pectina de mucílago y pulpa de café.....	31
Figura 2-5: Esquema general del proceso de extracción de pectina por método de hidrólisis ácida (calentamiento).	32
Figura 2-6: Determinación del grado de esterificación mediante interpretación FTIR. ...	35
Figura 2-7: Celulosa bacteriana como agente de refuerzo.....	38
Figura 2-8: Etapas del proceso para el desarrollo de películas basadas en pectinas. ...	39
Figura 2-9: Prueba mecánica con probeta en la máquina universal.....	41
Figura 3-1: Diagrama de Pareto estandarizado para el rendimiento de extracción de pectina en mucílago de café.....	44
Figura 3-2: Interacción de factores en el rendimiento de extracción de pectina en mucílago de café.	45
Figura 3-3: Diagrama de Pareto estandarizado para el rendimiento de extracción en pulpa de café.....	46
Figura 3-4: Interacción de factores en el rendimiento de extracción de pectina en mucílago de café.	47
Figura 3-5: Espectros FTIR de pectinas.....	51
Figura 3-6: Termograma de pectina de mucílago de café.....	53
Figura 3-7: Termograma de pectina de la pulpa de café.....	53

Figura 3-8: Micrografías SEM de pectina de mucílago de café.....	55
Figura 3-9: Micrografía SEM de pectina de pulpa de café.	55
Figura 3-10: Ensayo preliminar de solubilidad en agua de las películas.....	58
Figura 3-11: Formación de películas basadas en pectina de mucílago de café.....	60
Figura 3-12: Formación de películas basadas en pectina de la pulpa de café.....	60
Figura 3-13: Espectros FTIR de las películas basadas en pectina de mucílago, pulpa de café con la inclusión de celulosa y extracto de borra de café.	62
Figura 3-14: Termograma de la película M004 con inclusión de celulosa y extracto de borra de café.....	64
Figura 3-15: Termograma de la película P004 con inclusión de celulosa y extracto de borra de café.....	64
Figura 3-16: Micrografía SEM de la película M004 con inclusión de celulosa y extracto de borra de café.....	67
Figura 3-17: Micrografía SEM de la película P004 con inclusión de celulosa bacteriana y extracto de borra de café.	67
Figura 3-18: Resistencia a la tracción y elongación de las películas basadas en pectina de mucílago de café.....	70
Figura 3-19: Resistencia a la tracción y elongación de las películas basadas en pectina de pulpa de café.	70
Figura 3-20: Solubilidad en agua en muestras de película basadas en pectina de mucílago de café.....	72
Figura 3-21: Solubilidad en agua en muestras de película basadas en pectina de pulpa de café.....	73
Figura 3-22: Prueba de solubilidad en muestras de película basadas en pectina de pulpa de café finalizada las 24 horas.....	74
Figura 3-23: Preparación de suelo para seguimiento de biodegradación con controlada.	76
Figura 3-24: Porcentaje de biodegradabilidad bajo suelo en películas de pectina de mucílago de café.....	77
Figura 3-25: Porcentaje de biodegradabilidad bajo suelo en películas de pectina de pulpa de café.....	79
Figura 3-26: Muestra de película de pectina de pulpa de café al día 3.....	79
Figura 3-27: Perímetro de películas de pectina de mucílago de café en función del tiempo.....	81
Figura 3-28: Perímetro de películas de pectina de pulpa de café en función del tiempo.....	81
Figura 3-29: Registro fotográfico de la biodegradabilidad en suelo de las películas basadas en pectina de mucílago y pulpa de café en función del tiempo.	83
Figura 3-30: Día cero de biodegradabilidad en exposición al aire.....	84
Figura 3-31: Pérdida de peso en películas con pectina de mucílago en exposición al aire.	85
Figura 3-32: Pérdida de peso en películas con pectina de la pulpa en exposición al aire.	86
Figura 3-33: Presencia de cuerpo extraño en superficie de las películas.	87

Figura 3-34: Cambio en perímetro de las películas respecto al tiempo de biodegradabilidad en la intemperie. 88

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1-1: Condiciones del cultivo de café arábigo en Colombia.....	7
Tabla 1-2: Composición química de pulpa de café.	9
Tabla 1-3: Composición química del mucílago de café.....	10
Tabla 2-1: Diseño experimental de extracción de pectina en mucílago de café.	28
Tabla 2-2: Diseño experimental de extracción de pectina en pulpa de café.....	28
Tabla 2-3: Condiciones de extracción de pectina del mucílago y pulpa de café.....	29
Tabla 2-4: Formulaciones de películas basadas en pectina de mucílago y pulpa de café.	37
Tabla 3-1: Rendimiento de extracción de pectina en mucílago y pulpa de café.	43
Tabla 3-2: Variable de respuesta y grado de esterificación en extracción de pectina de mucílago de café.....	45
Tabla 3-3: Variables de respuesta de extracción de pectina en pulpa de café.....	47
Tabla 3-4: Caracterización fisicoquímica de las pectinas.....	49
Tabla 3-5: Propiedades mecánicas de las películas basadas en pectina de mucílago de café.....	71
Tabla 3-6: Propiedades mecánicas de las películas basadas en pectina de pulpa de café.	71
Tabla 3-7: Solubilidad en agua en películas basadas en pectina de mucílago y pulpa de café.....	75
Tabla 3-8: Características de suelo	80

Lista de Símbolos y abreviaturas

Símbolos con letras latinas

Símbolo	Término	Unidad SI	Definición
<i>AL</i>	Acidez libre	meq/g	Ec 2 – 3
<i>CM</i>	Contenido de metoxilo	%	Ec 2 – 4
<i>DE</i>	Grado de esterificación	%	Ec.2 – 5
<i>E</i>	Elongación o alargamiento a la rotura	%	Ec.2 – 7
<i>HR</i>	Humedad relativa	%	
<i>M</i>	Molaridad	mol/L	
<i>PE</i>	Peso equivalente	mg/meq	Ec.2 – 2
<i>R</i>	Rendimiento	%	Ec.2 – 1
<i>TS</i>	Resistencia a la tracción	N/mm ²	Ec. 2 – 8

Símbolos con letras griegas

Símbolo	Término	Unidad SI	Definición
α	Enlace alfa		Posición hidrógeno
β	Enlace beta		Posición hidrógeno

Subíndices

Subíndice	Término
KBr	Bromuro de potasio
NaOH	Hidróxido de sodio
NaCl	Cloruro de sodio
OH	Hidróxilo

Abreviaturas

Abreviatura	Término
<i>GalA</i>	Ácido galacturónico
<i>HM</i>	Alto metoxilo
<i>LM</i>	Bajo metoxilo
<i>TM00x</i>	Tratamientos pectina mucílago
<i>TP00x</i>	Tratamientos pectina pulpa

Introducción

Desde el punto de vista nutricional, social y económico son escasas las alternativas para el aprovechamiento de los residuos orgánicos que sumado a la falta de concientización por la protección del medio ambiente conducen a una inadecuada disposición final de los residuos, convirtiéndolos en un foco de contaminación de los recursos naturales. En particular, los residuos procedentes del sector agroindustrial son empleados en algunos casos como fuente de energía en calderas o en la elaboración de alimento para animales. En Colombia, por ejemplo, la agroindustria cafetera generó una producción de 12.6 millones de sacos de 60 Kg para el año 2021 (Comité de Cafeteros de Antioquia, 2022), de los cuales se obtiene residuos a través del proceso del beneficio del grano, con una estimación en producción entre el 80 – 140 Kg/ton-año y 2 millones/ton-año en mucílago y pulpa de café, respectivamente (Puerta Quintero & Ríos Arias, 2011). El panorama general indica un alto porcentaje de disposición final deficiente convirtiéndose en un foco de contaminación, siendo descartados en ríos o quebradas cercanas a los cafetales sin un tratamiento previo adecuado o en el mejor de los escenarios son aprovechados en la producción de alimento para animales o elaboración de abono.

El mucílago de café constituye de una capa de aproximadamente 2 mm de espesor fuertemente adherido a la cáscara del grano de café y desde el punto de vista físico es un sistema coloidal líquido, siendo por tanto un hidrogel (Rodríguez Valencia & Zambrano Franco, 2011). Su proceso de obtención se da a través de dos mecanismos: la vía húmeda (fermentación natural) o por la vía mecánica (desmucilaginado mecánico) siendo este último un método con marcadas ventajas ya que garantiza una reducción en el consumo de agua, así como la contaminación en términos de demanda química de oxígeno (DQO) que de acuerdo con la Resolución 0631 de 2015, los límites máximos en vertimientos puntuales a cuerpos de aguas superficiales de las actividades productivas de la agroindustria, como la del café, no deben superar los 3.000 y 650 mg/L DQO en procesos ecológicos y tradicionales, respectivamente.

Los subproductos de la agroindustria cafetera son poco conocidos y/o explorados en gran parte por el desconocimiento de su potencial tanto agrícola como en la elaboración de bebidas y el contenido de componentes como la pectina. Químicamente, en peso húmedo, el mucílago está constituido por cenizas (0,43 %), lípidos (0,12 %), proteínas (0,93 %), fibra (0,54 – 0,99 %), azúcares reductores (4,00 – 4,61 %) y compuestos pécticos (0,57 – 2,02 %) (Puerta Quintero & Ríos Arias, 2011). La pulpa, por el contrario, se constituye por taninos (1,80 – 8,56 %), azúcares reductores (12,4 %), ácidos clorogénicos (2,6 %) y sustancias pécticas totales (5,50 – 6,53 %) (Serrat-Díaz *et al.*, 2018). Asimismo, la pectina presente en el mucílago y en la pulpa, se caracteriza por ser uno de los principales polisacáridos estructurales presentes en muchas plantas (Mellinas *et al.*, 2020) y del que se compone principalmente de unidades de ácido galacturónico unidos por enlaces glucosídicos α 1-4, siendo, además, soluble en agua con capacidad de formar geles bajo condiciones adecuadas.

La extracción de pectina se efectúa mediante una serie de etapas que consiste en la hidrólisis, separación y recuperación, empleando metodologías basadas en extracción asistida por ultrasonido, microondas, enzimática y convencional (hidrólisis ácida), siendo este último el más empleado en la industria por su facilidad y economía. El proceso de extracción requiere de variables como la temperatura, tiempo y pH donde la interacción entre ellas tienen un efecto directo en el rendimiento, las propiedades fisicoquímicas y estructurales de la pectina. En cuanto al solvente, los más empleados en la industria son los ácidos minerales fuertes como el ácido nítrico y ácido sulfúrico, sin embargo y con miras a implementar un proceso de hidrólisis amigable con el medioambiente, se emplea un solvente orgánico como el ácido cítrico, considerado un aditivo alimentario natural, económico y nada agresivo con el medioambiente, por tanto, una alternativa mucho más interesante que los ácidos antes mencionados (Pinheiro *et al.*, 2008). Algunos estudios revelan la variabilidad en resultados en función del rendimiento de extracción y cambios sobre las propiedades fisicoquímicas y estructurales de la pectina, como lo expone el estudio realizado por Yu *et al.* (2021) en una extracción de pectina a partir del orujo de cidra o el resultado obtenido por Liew, Chin, & Yusof (2014) que registraron un rendimiento de extracción de 14,60 % a partir de las cáscaras de maracuyá. De tal modo que las variables de extracción, el método empleado y el estado de maduración de la materia prima tienen un papel importante en función del rendimiento y la caracterización de la pectina.

Por otra parte, la pectina, al poseer habilidades para la formación de geles con propiedades como espesante y estabilizante, tiene aplicaciones en industrias como la farmacéutica y de los alimentos, entre otras, para el desarrollo de productos favoreciendo su estabilidad. De igual manera, muchos de los materiales biopoliméricos de origen natural son empleados en la fabricación de películas y en formulaciones de recubrimientos que vienen de fuentes como los de origen animal (colágeno y gelatina), residuos de la industria de procesamiento de alimentos marinos (quitina), agrícola (ácidos grasos saturado e insaturados), hidrocoloides [proteínas (soya, gluten de trigo), polisacáridos (celulosa, almidón, pectinas)] y fuentes microbianas (ácido poliláctico, polihidroxialcanoatos) (Tharanathan, 2003), siendo el almidón uno de los polisacáridos más empleado en la industria gracias a su disponibilidad en la naturaleza.

Con relación a la fabricación de películas, los agentes involucrados en las formulaciones pueden dar origen a películas compuestas. La importancia de conocer y entender las propiedades químicas y estructurales de dichos agentes permite estudiar posibles modificaciones mediante el uso de aditivos como la adición de extractos de residuos agrícolas siendo los aceites esenciales una alternativa gracias a sus propiedades antimicrobianas. En ese orden de ideas, Tharanathan (2003) expresó que durante la formación de películas se genera una serie de asociaciones inter e intramoleculares o reticulaciones de las cadenas del polímero creando una red 3D semirrígida que atrapa y paraliza el solvente, además, hace referencia al grado de cohesión, que depende en gran medida de la estructura del biopolímero, la temperatura, la presencia de plastificantes y el disolvente. Finalmente, se hace mención de que la presencia de lípidos en las formulaciones compuestas proporciona un atractivo acabado vítreo sobre la superficie del producto.

El uso de aditivos como los plastificantes o cualquier otro en las formulaciones de películas pueden alterar el resultado final de la misma modificando su funcionalidad, así como la aplicación la cual debe cumplir con ciertas características asociadas a propiedades funcionales como barrera al oxígeno, CO₂, la permeabilidad al vapor de agua, la resistencia a la tracción, el alargamiento a la rotura y las propiedades físicas como la opacidad y el color. Los plastificantes son sustancias normalmente líquidas que, comparados con el agua, presentan una alta viscosidad, se adicionan con el propósito de brindar mejor

flexibilidad a la película resultante a través de la reducción en las fuerzas intermoleculares. Uno de los plastificantes más usado en el desarrollo de películas es el glicerol y se cataloga como un agente suavizante, que contribuye a mejorar la flexibilidad de películas.

Estudios relacionados con el desarrollo de películas basadas en pectinas cítricas han obtenido resultados con películas poco resistentes a la tracción mecánica y altamente solubles en agua, dos propiedades importantes para su aplicabilidad industrial, principalmente en empaques de alimentos. Por tal motivo, se hace necesario adicionar agentes de refuerzo que respondan con una mejora significativa a dichas propiedades. La adición de otros polímeros como la celulosa ha generado resultados promisorios incrementando la resistencia a la tracción hasta $5,18 \pm 0,10$ MPa en películas basadas en pectina y celulosa desarrolladas por Ye *et al.* (2019). Sin embargo, la adición de celulosa tiende a disminuir la elongación de las películas, resultado que obtuvieron El Halal *et al.* (2015) en la investigación de películas basadas con almidón oxidado y celulosa de cebada.

En este contexto y al tratarse de una realidad que la humanidad enfrenta actualmente como consecuencia de la contaminación originada por los materiales plásticos sumado a la deficiente disposición final de residuos orgánicos, nace la necesidad de buscar alternativas viables enfocadas en mitigar dicha problemática. Los residuos agrícolas, como los producidos en la industria cafetera, ofrecen dentro de su composición sustancias de interés que sirven para el desarrollo de productos novedosos como las películas, siendo, además, una excelente alternativa al cambio progresivo del uso de polímeros sintéticos. De tal modo, se da visibilidad a residuos poco convencionales dentro de la industria, ya que su aprovechamiento se limita a la elaboración de compost o alimento para animales, desconociendo su gran potencial para la extracción de la pectina. En consecuencia, el presente trabajo de investigación busca desarrollar películas biodegradables basadas en pectinas extraídas de los subproductos de la industria cafetera como alternativa de solución que contribuye a mitigar la problemática ambiental generada por los materiales plásticos de un solo uso y la acumulación de desechos orgánicos, produciendo innovación con aplicación de tecnologías amigables con el medioambiente que posibilita responder a una situación problemática de interés general.

Objetivos

Objetivo general

Establecer un prototipo de películas biodegradables a base de pectinas extraídas de los subproductos del beneficio del café como el mucílago y pulpa.

Objetivos específicos

- Evaluar parámetros operacionales para la extracción de pectina en función de rendimiento y calidad fisicoquímica.
- Evaluar el desarrollo de películas flexibles a base de pectina para su aplicación en industria alimentaria.
- Evaluar biodegradabilidad de películas flexibles a base de pectina bajo condiciones ambientales no controladas.

1. Capítulo 1: Estado del arte

1.1 Producción de café

Colombia es uno de los principales países en producción de café arábigo en el mundo siendo superado por países como Vietnam y Brasil. La producción de café para el año 2021, según la Federación Nacional de Cafeteros, fue de 12,6 millones de sacos de 60 Kg de café verde, un 9 % menos frente a la cosecha registrada en el año 2020 con 13,9 millones de sacos. Esta disminución lo atribuyen a factores como las condiciones climáticas registradas en el segundo trimestre del año 2020, además de la situación global por la Covid-19.

La buena calidad en su sabor y aroma hacen que el café colombiano sea reconocido y apetecido a nivel mundial. La razón de estas se atribuye principalmente a las condiciones climáticas determinadas para su producción, sumado a otras variables como las condiciones y características del suelo, variedad, prácticas agronómicas y de beneficio, así como la localización referida a la altitud sobre el nivel del mar. Las anteriores condiciones se registran en la Tabla 1-1, y en las que se pueden encontrar principalmente en la región del Eje Cafetero que integra los departamentos de Risaralda, Caldas y Quindío, además de los departamentos como Antioquia y Tolima, entre otros.

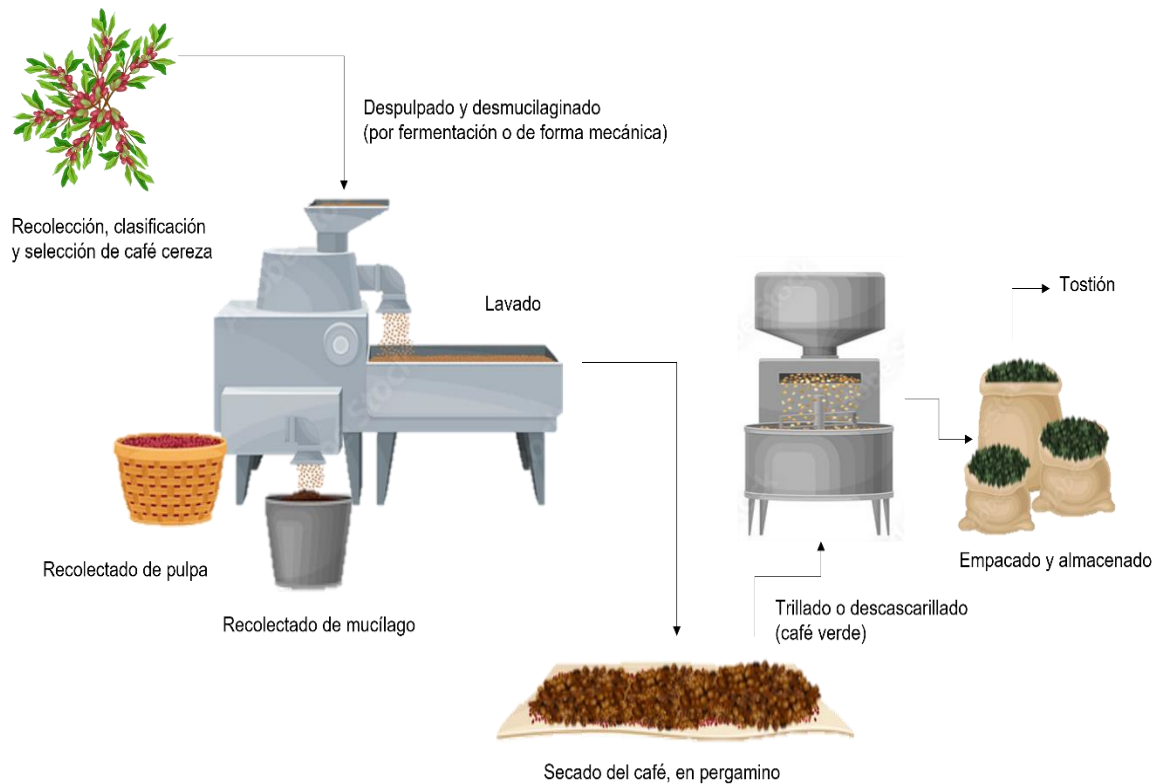
Tabla 1-1: Condiciones del cultivo de café arábigo en Colombia.

Metros de altura sobre el nivel del mar (m.s.n.m)	1.200–1.800
Temperaturas templadas (T °C)	17-23
Precipitaciones cercanas anuales (mL)	2.000

Fuente: Federación de cafeteros de Colombia (2020).

La producción del grano de café, para su comercialización y consumo, requiere de una serie de etapas en el proceso del beneficio de café, como se muestra en la Figura 1-1. Consiste en llevar las cerezas de café seleccionadas a una máquina de despulpado para extraer los granos u almendras, estos a su vez presentan una capa gelatinosa que es conocida como mucílago de café, cuya eliminación se realiza a través de un desmucilaginado mecánico o desmucilaginado por fermentación natural, para ello, los granos (sin pulpa) son llevados a una etapa de fermentación en agua por un tiempo de aproximadamente 18 – 24 horas, posteriormente los granos se someten a una etapa de lavado seguido del secado al sol, donde, una vez secos se les retira la última piel llamada pergamino a través de una trilladora, obteniendo café verde.

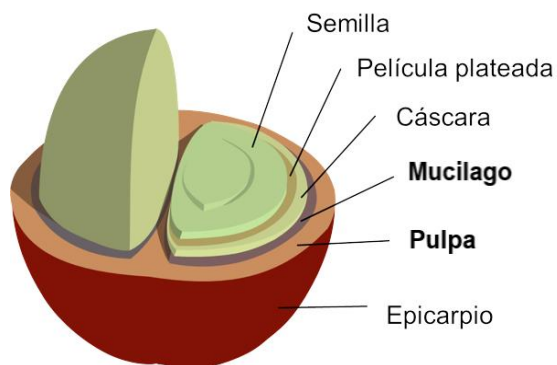
Figura 1-1: Proceso del beneficio de café.



1.2 Subproductos generados en el beneficio del café

El fruto de café se compone principalmente de la semilla, película plateada, la cáscara, el mucílago, la pulpa y el epicarpio (Figura 1-2), siendo la pulpa y el mucílago los de mayor interés en este estudio, por su alto contenido de pectina.

Figura 1-2: Composición del fruto de café.



La pulpa es el primer subproducto en obtenerse durante el beneficio del café y representa el 29 % del peso seco del fruto (Murthy & Madhava Naidu, 2012). Se caracteriza por ser un subproducto rico en proteína, minerales y carbohidratos, además de otros compuestos como los que se registran en la Tabla 1-2. En cuanto a su producción, reportes previos estiman que se obtienen 2 millones/ton-año.

Tabla 1-2: Composición química de pulpa de café.

Compuesto	% base seca
Taninos	1,80 – 8,56
Sustancias pécticas totales	6,5
Azúcares reductores	12,4
Azúcares no reductores	2,0
Cafeína	1,3
Ácido clorogénico	2,6
Ácido cafeico total	1,6

Fuente: Braham & Bressani, (1978).

El mucílago es uno de los subproductos con alto valor comercial, el cual se obtiene a través del procesamiento del beneficio de café mediante dos mecanismos. Se encuentra localizado entre la cáscara y la pulpa del grano de café (Figura: 1-2) representando entre el 4 y 5 % del peso seco del fruto (Braham & Bressani, 1978). De acuerdo con Braham & Bressani. (1978), el mucílago del café constituye una capa de aproximadamente $\frac{1}{2}$ a 2 mm de espesor adherida a la cáscara del grano caracterizándose, además, como un sistema coloidal líquido teniendo un comportamiento desde el punto de vista físico como un hidrogel. En cuanto a su composición química, el mucílago está constituido por sustancias pécticas totales de 35,8 % y azúcares totales del 45,8 %, entre otros, como se observa en la Tabla 1-3.

Tabla 1-3: Composición química del mucílago de café.

Compuesto	% base seca
Sustancias pécticas totales	35,8
Azúcares totales	45,8
Azúcares reductores	30,0
Azúcares no reductores	20,0
Celulosa + cenizas	17,0

Fuente: Braham & Bressani, (1978).

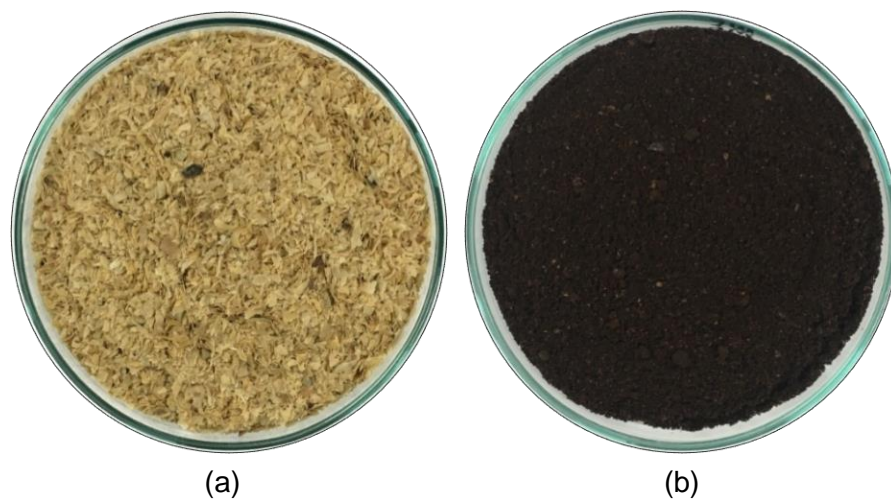
El mucílago de café, de gran interés por su composición química, siendo fuente rica en azúcares, proteínas y minerales, entre otros, se obtiene mediante dos métodos: por fermentación natural y desmucilaginado mecánico (Figura 1-3a, b). La pulpa de café (Figura 1-3c) es otro de los subproductos de interés para el estudio y se caracteriza, como se indicó en la Tabla 1-2, por ser fuente rica en ácidos clorogénicos, azúcares, taninos, celulosa, hemicelulosa, entre otros compuestos, siendo el de mayor interés la pectina.

Figura 1-3: Subproductos del beneficio del café: mucílago por fermentación natural (a); mucílago por desmucilaginado mecánico (b) y pulpa de café (c).



El pergamino (Figura 1-4a) se constituye como otro de los subproductos del beneficio del café que representa alrededor del 12 % del peso del grano en base seca (Valencia, 2000). Dada su composición lignocelulósica se ha empleado como material de combustión en ladrilleras o como fuente de calor en hogares campesinos. Por el contrario, la borra de café (Figura 1-4b), es un residuo de interés para la investigación, obteniéndose durante la preparación de la bebida a partir del grano tostado o molido, que se caracteriza por su contenido de aceites que pueden ser aplicados en procesos industriales diversos.

Figura 1-4: Pergamino (a) y borra de café (b).



Específicamente por desconocimiento del alto valor composicional de los subproductos, las aplicaciones generales están direccionadas a la preparación de alimento para animales y/o como ingrediente para la producción de abono, o en el peor de los escenarios son descartados a fuentes hídricas como quebradas aledañas a los cafetales, induciendo a un deterioro del ecosistema por la alta carga orgánica, dando origen a malos olores y por ende atrayendo vectores como agentes patógenos, moscas, entre otros. En este contexto, se debe realizar una gestión eficiente en el manejo de los residuos del café y obtener beneficios que contribuyan con la preservación del medio ambiente, evitando así la contaminación del entorno.

El proceso de transformación de los residuos para obtener bioproductos de interés debe estar orientado al objetivo principal, en el que implique menor riesgo de contaminación durante las etapas que este conlleve, evitando el uso de químicos con alto potencial de riesgo para el medio ambiente. Dos de los principales subproductos de la industria cafetera con alto potencial para obtener de ellos compuestos de interés económico son el mucilago y pulpa de café.

Tradicionalmente la pulpa de café ha tenido aplicaciones limitadas como fuente de alimento para ganado, compostaje y fertilizante. Dichas aplicaciones no responden un aprovechamiento del total de su potencial, y debido a su composición, puede ser utilizada como medio de crecimiento para microorganismos gracias a su fuente rica en azúcares, además ha sido empleada para la extracción de proteína para su posterior aplicación en la elaboración de concentrados proteicos. Otra de las aplicaciones que se reportan en la literatura ha sido en la extracción de cafeína y pectinas.

El mucílago de café, mezclado con la pulpa, ha sido empleado en la alimentación de lombriz, siendo un sustrato idóneo para la producción de biomasa. Por otro lado, al poseer una alta cantidad de azúcares reductores se ha implementado en procesos fermentativos para la producción de metabolitos con alto interés en la industria y que gracias a su composición química se emplea para la producción de alcohol etílico (Valencia, 2000). En adición, el mucílago es un residuo rico en sustancias pécticas en las que puede ser

aprovechado para la extracción de pectina, polímero con alto valor de interés comercial gracias a su capacidad gelificante y espesante.

1.3 Pectinas

1.3.1 Localización, composición y estructura de la pectina

Las sustancias pécticas son un grupo complejo de polisacáridos que se encuentran en la lamela media y la pared primaria de las células vegetales donde su calidad y cantidad depende en gran medida de la especie vegetal y condicionada a diversos factores productivos (Yabe, 2018). La protopectina, estado primario de la pectina, es una sustancia péctica insoluble en agua pero que por medio de una hidrólisis controlada puede liberar y originar la pectina soluble. Por otro lado, el estado de maduración del fruto se relaciona directamente a la calidad del polímero, en el que un estado avanzado en la maduración genera una desintegración molecular por efecto de la actividad de las enzimas pectinolíticas, las cuales establecen pectinas de cadenas cortas con propiedades gelificantes y espesantes muy bajas.

La pectina constituye aproximadamente entre el 30 – 35 % de las paredes celulares de las plantas dicotiledóneas y entre el 1 – 5 % en plantas monocotiledóneas (Yabe, 2018). Es considerado un polisacárido complejo de monosacáridos de ácido α 1,4 D – galacturónico (GalA, por sus siglas en inglés), constituido por tres principales regiones estructurales como: el homogalacturonano (HG), el rhamnogalacturonano-I (RG-I) y el rhamnogalacturonano – II (RG-II), como se observa en la Figura 1-5.

▪ El homogalacturonano (HG)

Es catalogado como la región de la pectina con el mayor dominio en las paredes celulares, representando un 60 % del total de la pectina (Voragen *et al.*, 2009). Se trata de un homopolímero lineal compuesto por residuos de ácido D-galacturónico enlazados entre sí por enlaces glucosídicos de tipo α -1,4 y que además es sintetizado en el complejo de Golgi de las células vegetales de una manera altamente metil - esterificada, pudiendo llegar a un 100 % metilada de un grupo metilo en el carbono perteneciente al grupo carboxilo de la posición 6 que finalmente se desesterifica enzimáticamente en la pared celular de la planta (Yapo, 2011).

▪ La Rhamnogalacturonano I (RG-I)

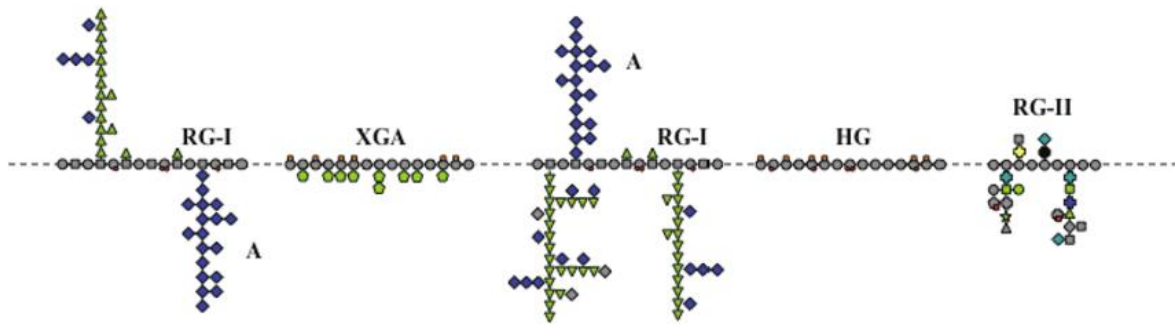
Es clasificada como una familia de polisacáridos pécticos que a diferencia de los homogalacturonano (HG) son ramificados y de composición heterogénea. Este heteropolisacárido contiene una columna vertebral del disacárido repetitivo [$\rightarrow 4$] - α - D-GalpA-(1 \rightarrow 2) - α - L-Rhap-(1 \rightarrow]. Los residuos de GalpA de la columna vertebral pueden estar acetilados en el carbono C-2 y/o C-3. Sin embargo, dichos residuos no suelen estar sustituidos por cadenas laterales de mono u oligosacáridos, no obstante Ridley *et al.* (2001) registró en su investigación la presencia de un único residuo de β -D-GlcpA que estaba unido al C-3 de ~ 2 % de la GalpA en la columna vertebral de la RG-I en la remolacha azucarera. Además, expresan que entre el 20 – 80 % de los residuos de ramnosilo (Rhap) están sustituidos en el carbono C-4 con cadenas laterales de oligosacáridos neutros y ácidos, teniendo en cuenta el tipo de fuente de la planta y del método de aislamiento. Finalmente, gran parte de los residuos ramnosil, de su esqueleto, tienen cadenas laterales que poseen residuos de L-arabinofuranosa y D-galactopiranososa, siendo estos los más predominantes (Ridley *et al.*, 2001).

▪ Rhamnogalacturonano II (RG-II)

Clasificada como la pectina más compleja presente en las paredes primarias de las células vegetales, su estructura se distingue por poseer una región diferente del homogalacturonano (HG), como se observa en la Figura 1-5, del que contiene grupos de cadenas laterales no iguales (con residuos de azúcares distintivos, como la apiosa, el ácido acético y el ácido 3-lixo-2-heptulosárico (DHA), entre otros (Voragen *et al.*, 2009).

De acuerdo con la literatura, es común encontrar a la rhamnogalacturonano II (RG-II) en forma de dímero, mediante la formación de un complejo con el boro, dando lugar a un éster de borato – diol, que puede entrecruzar dos moléculas de homogalacturonano (HG) y del que solo los residuos de apiofuranosilo de las cadenas laterales que contienen 2-O-metil-D-xilosa en cada una de las subunidades del dímero pueden participar en el entrecruzamiento (Voragen *et al.*, 2009).

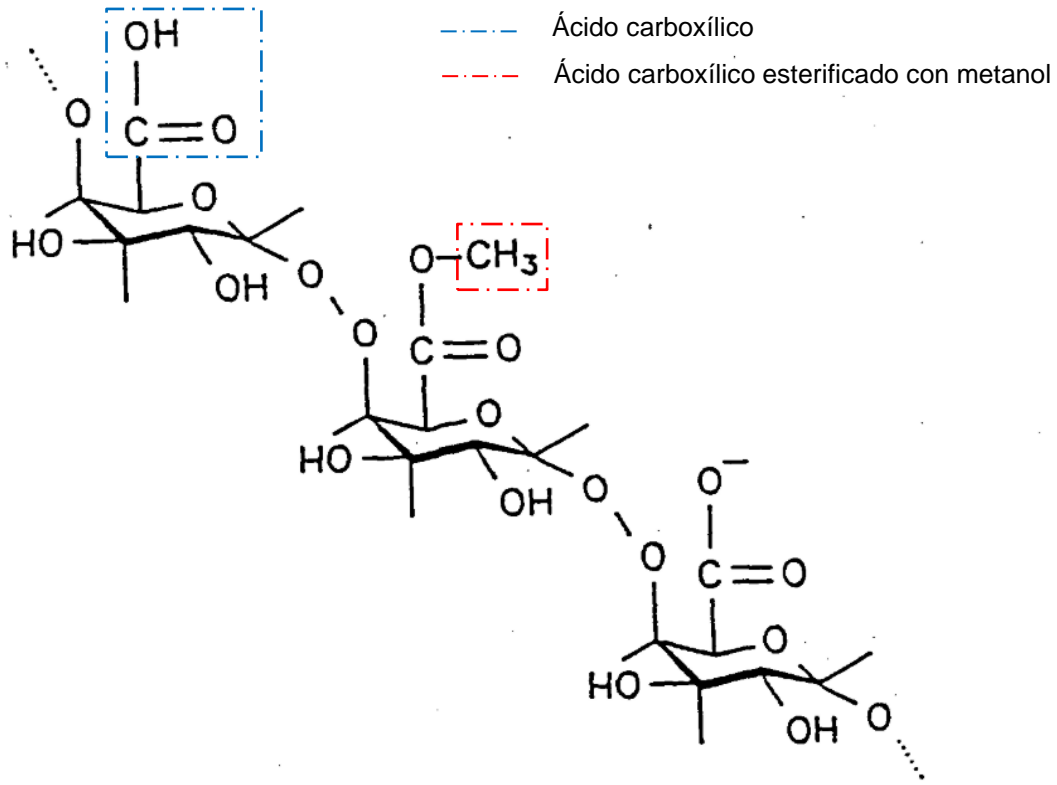
Figura 1-5: Representación de los elementos estructurales de la pectina HG: Homogalacturano; RG-I: Rhamnogalacturonano I; XGA: Xylogalacturonano; RG-II: Rhamnogalacturonano-II; A: Arabinosa.



Fuente: recuperado de Bonnin & Lahaye., (2013).

Algunas investigaciones se han enfocado en esclarecer la importancia de la estructura química dentro del desarrollo de las plantas, principalmente durante la fase de maduración de los frutos, así como sus aplicaciones en la industria de los alimentos. Como se expuso anteriormente, la pectina se compone principalmente de polímeros esencialmente lineales de unidades de ácido D-galacturónico unidas a enlaces glucosídicos α -D (1-4) (Figura 1-6), muchos de ellos esterificados con grupos metano (BeMiller, 1986).

La pectina es un polisacárido estructural y celular presente en todas las plantas superiores y que a su vez se caracteriza por ser polimolecular y polidispersa, es decir, es heterogénea con respecto a la estructura química y al peso molecular. Las propiedades finales de la pectina con relación a composición media y distribución de pesos moleculares pueden variar según la fuente, los métodos y parámetros operacionales en el proceso de extracción.

Figura 1-6: Segmento de la molécula de pectina.

Fuente: Recuperado de Thankur *et al.*, (1997).

Algunos grupos carboxílicos que conforman la estructura molecular de las pectinas naturales están en forma de ésteres metílicos. Se debe mencionar además que las condiciones de extracción de pectina interfieren en los grupos de ácido carboxílico libres, pudiendo estar parcial o totalmente neutralizados. Finalmente, la relación que tiene las unidades de ácido D-galacturónico esterificados y el total de las unidades de ácido D-galacturónico se denomina como grado de esterificación (DE), resultando un importante parámetro que brinda información sobre las propiedades del polímero como la solubilidad, condiciones necesarias para la gelificación y la capacidad de formación de gel, entre otros (BeMiller, 1986).

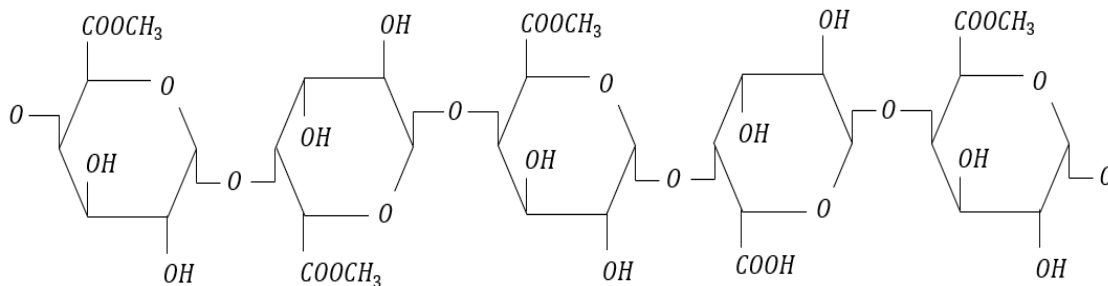
1.3.2 Clasificación según el grado de esterificación

Durante el proceso de extracción, la pectina presenta una modificación estructural dando origen a unidades de ácido D-galacturónico esterificados por grupos de metilo. Por lo tanto, y en función del porcentaje de restos de ácido galacturónico esterificado, las pectinas se clasifican como de alto metoxilo (HM) y bajo metoxilo (LM).

- **Pectinas de alto metoxilo (HM)**

Contienen más del 50 % de los grupos carboxilo presentes en las unidades de los ácidos galacturónicos esterificados con metanol (Figura 1-7). Tienen la capacidad de formar geles en un rango de pH entre 2,8 y 3,5 y al mismo tiempo con contenidos de sólidos solubles, azúcares, entre un 60 – 70 %.

Figura 1-7: Estructura molecular de pectina de alto metoxilo (HM).



Dentro de sus propiedades físicas se encuentra la viscosidad. Las soluciones acuosas de las pectinas de HM depende de variables significativas como el DE, el pH, la temperatura y la concentración de electrolitos (Oakenfull, 1991). Es necesario un pH bajo para la formación de geles de pectina de HM, condición que permite que los grupos ácidos, no esterificados, se mantengan en forma no ionizada evitando así la repulsión entre cargas. Según la literatura, en soluciones acuosas de pectina con pH de 3,4, alrededor de la mitad de los grupos carboxilo se encuentran ionizados, contrario a pH 2,0 donde el porcentaje de ácidos carboxílicos ionizados es bajo.

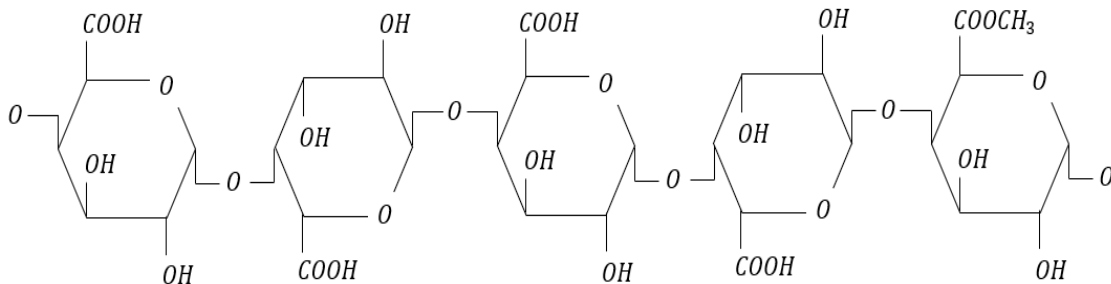
El DE en pectinas de HM es un parámetro importante que actúa sobre las propiedades del polímero. A mayor DE se requiere de mayor temperatura de gelificación. Por ejemplo, una

pectina con un DE del 76 % es capaz de gelificar a temperaturas cercanas a los 95 °C, teniendo una capacidad de gelificar en pocos minutos si se trabaja a temperaturas por debajo de 85 °C. Esta clase de pectinas se las conoce como “pectinas de gelificación rápida”. Por el contrario, pectinas cercanas a 65 % difieren en el tiempo de gelificación y de la cual no gelifica a una temperatura de 75 °C, requiriendo más tiempo que aquellas con un DE superior. A esta clase de pectinas se las llama “pectinas de gelificación lenta”.

▪ **Pectinas de bajo metoxilo (LM)**

Son aquellas que tienen menos del 50 % de los grupos carboxilo esterificados con metanol (Figura 1-8). En este caso, las pectinas LM difieren de las pectinas de HM siendo el mecanismo de formación de geles totalmente diferente, necesitando iones calcio para permitir la unión entre cadenas formando puentes entre las cargas negativas.

Figura 1-8: Estructura molecular de pectina de bajo metoxilo (LM).



La concentración de calcio juega un papel fundamental para la formación de geles. Las cantidades, según se reporta en la literatura, suele estar alrededor de 500 ppm, valores superiores pueden llegar a no tener efecto, llevando incluso a debilitar el gel. La formación del gel acontece por la interacción de enlaces de los cationes divalentes (calcio) con las moléculas del polímero adyacentes dando lugar a una red tridimensional con los grupos carboxilos de la pectina.

Los geles de las pectinas LM pueden obtenerse en rangos de pH entre 1 y 7, incluso mayores. Esta variable, junto con la cantidad de sólidos solubles, con aproximadamente el 80 %, no interfieren en la textura del gel siendo la presencia de calcio (40-100 mg) el factor

de mayor relevancia en la formación de este. Sin los iones de calcio la formación de gel será inexistente (Ferreira Ardila, 2007).

1.4 Propiedades fisicoquímicas

La pectina cuenta con propiedades físicas y químicas importantes dentro de las cuales se destacan la solubilidad, viscosidad, acidez y el poder de gelificación.

▪ Solubilidad

La solubilidad en agua está fuertemente asociada al grado de polimerización, de igual manera con la distribución y cantidad de los grupos metoxilos. La solubilidad puede aumentar con la disminución del peso molecular del polímero y con el aumento de los grupos carboxilos esterificados (Thankur *et al.*, 1997). Sin embargo, otras variables como el pH, la temperatura y la naturaleza del soluto pueden afectar la solubilidad de las pectinas.

El agua es el principal solvente para las pectinas, sin embargo, la pectina es soluble también en solventes como formamida y la glicerina caliente. Por otro lado, las pectinas son insolubles en solventes orgánicos y soluciones de detergentes cuaternarios; en contacto con estos agentes se genera un precipitado, facilitando la recuperación de pectina posterior a la etapa de la hidrólisis en el proceso de extracción.

▪ Viscosidad

La viscosidad es una propiedad que junto con la solubilidad depende del DE, el peso molecular, la temperatura, el pH, la concentración y presencia de electrolitos (BeMiller, 1986).

La viscosidad en soluciones de pectina de HM puede variar de acuerdo a la concentración de azúcar (Oakenfull, 1991). Por el contrario, la viscosidad de las pectinas de LM se ve afectada por la adición de calcio y otros iones polivalentes, aumentando dicha propiedad en las soluciones y en las que pueden gelificar si la concentración de iones calcio supera el límite que oscila, según la literatura, entre 20 y 100 mg por gramo de pectina.

▪ Acidez

El pH de las soluciones pécticas tiende a presentar una estabilidad a pH 4.0. Las pectinas disueltas sufren lo que se llama una desesterificación y una despolimerización en los

sistemas acuosos tomando un carácter ácido el cual depende del medio y del grado de esterificación. A pH superiores a 4, la desesterificación y la despolimerización ocurren simultáneamente siendo la tasa de desesterificación mayor que la de despolimerización. Finalmente, BeMiller (1986) asevera que la presencia de solutos disminuye la actividad del agua, reduciendo las tasas de ambas reacciones.

- **Poder de gelificación**

La capacidad de formar gel es considerada como la propiedad física más importante de la pectina. Este fenómeno acontece cuando una parte de la cadena del polímero interactúa con otra a lo largo de su longitud constituyendo una red tridimensional. BeMiller (1986) afirma que esta agregación de cadenas se produce a través enlaces de hidrógeno, puentes de cationes divalentes o interacciones hidrofóbicas.

Sin embargo, existen factores que determinan la capacidad de formar gel y que a su vez están relacionados con las características de este, siendo la temperatura, el pH, la concentración de azúcar y tipo de cationes, así como la concentración del polímero los implicados, asimismo de las propiedades moleculares propias de la pectina como el peso molecular, DE, grado de amidación, presencia de ésteres de acetato, entre otros. De tal manera que las pectinas de HM gelifican solamente en presencia de altas concentraciones de azúcar y las pectinas de LM gelifican en presencia de cationes divalentes (iones calcio).

En el caso de las pectinas de LM, por ejemplo, la gelificación causada por la presencia de iones calcio depende especialmente del grado de esterificación, siendo para este tipo de pectinas predominante lo grupos carboxílicos no esterificados (libres). La gelificación se considera como el resultado de los iones de calcio que forma complejos unidos en forma de cruz con los grupos carboxílicos libres de un número de cadenas de pectina causando la formación de una matriz gelificada tridimensional.

1.5 Métodos de extracción

Las características fisicoquímicas y estructurales de la pectina están asociadas a factores como el método de extracción. Se ha documentado que los métodos de extracción de

pectinas pueden ser químicos, físicos y enzimáticos, siendo los más empleados en la industria.

▪ **Método químico**

Varios son las técnicas que se llevan a cabo en los métodos de extracción química y que consisten principalmente en dos etapas. La primera es la extracción de la pectina mediante hidrólisis empleando ácidos orgánicos como el acético, cítrico, málico y ácidos inorgánicos como el nítrico, clorhídrico, entre otros. La segunda etapa del proceso consiste en el aislamiento de la pectina por precipitación alcohólica.

La pectina se obtiene mediante una serie de reacciones que se da con la hidrólisis de la protopectina, un estado primario del polímero en la pared celular primera de la fuente vegetal. La temperatura, el pH y el tiempo son considerados como variables críticas en la extracción y se las relaciona en función del rendimiento y caracterización fisicoquímica y estructural de la pectina (Chan & Choo, 2013; Pinheiro *et al.* 2008; Yapo, 2007).

Industrialmente, es el método más empleado gracias a los altos rendimientos y buena calidad fisicoquímica de la pectina extraída. Los ácidos generalmente empleados en la industria son el ácido clorhídrico y nítrico, sin embargo, el ácido cítrico ha demostrado ser un buen agente de extracción en cuanto a preservar los parámetros intrínsecos de las pectinas se trata, es decir el grado de metoxilación (Pereira *et al.*, 2016), siendo buena alternativa al uso de ácidos inorgánicos agresivos para la extracción de la pectina. Las variables de extracción varían en rangos de temperaturas entre 60-100 °C , pH entre 1,3 – 3 y tiempos de extracción entre 20 minutos – 1 hora. Vriesmann *et al.* (2012) y Canteri-Schemin *et al.* (2005) realizaron estudios del efecto de la temperatura en la extracción de pectina en cáscara de cacao (*Theobroma cacao* L) y orujo de manzana, respectivamente, obteniendo buenos resultados en función del rendimiento a medida que aumentaba la temperatura. Por otro lado, Chan & Choo, (2013) realizaron un estudio sobre el efecto de la temperatura, el tiempo de extracción y la relación sustrato: solvente en la extracción de pectina de la cáscara de cacao dando buenos resultados a medida que la temperatura y tiempo aumentaban obteniendo un rendimiento de 7,62 % usando ácido cítrico a pH 2,5 (1:25 (w/v)) a 95 °C por 3 horas.

▪ **Métodos físicos y enzimáticos**

Los métodos de extracción físicos como la extracción por microondas o mediante ultrasonido son métodos muy limitados en la industria, sin embargo, estudios recientes han demostrado que los tratamientos de extracción asistida por ultrasonido tienen un gran potencial para una variedad de procesos comerciales con aplicaciones dentro de la industria alimentaria y farmacéutica como alternativa a métodos tradicionales.

La extracción asistida por ultrasonido implica el uso de energía acústica y de disolventes para la extracción de los compuestos presentes en los materiales vegetales. Implica dos etapas, con un primer evento denominado difusión que se da a través de las paredes celulares y el lavado de los contenidos celulares una vez las paredes celulares se rompan, ambos fenómenos afectados directamente por la irradiación del ultrasonido (Minjares-Fuentes *et al.*, 2014). El método se destaca por presentar ventajas con el aumento del rendimiento y la reducción del tiempo de extracción de igual manera con el reducido consumo de disolventes tóxicos. Hosseini *et al.* (2019) fueron algunos de los investigadores que reportaron altos rendimientos de extracción con dicha tecnología, con valores de $28,07 \pm 0,67$ % operando bajo condiciones óptimas de potencia de ultrasonido de 150 W, tiempo de extracción de 10 minutos y un pH de 1,5.

El método de extracción enzimático es otro método empleado en la extracción de pectinas, una alternativa eco-amigable por la no generación de residuos al impedir reacciones secundarias que se presentan en los métodos químicos. Como ventaja, se requiere de concentraciones bajas de enzima, ya que estas son muy selectivas, además el proceso requiere de bajas temperaturas y presión. Al emplearse enzimas, se presenta como una desventaja frente al método de extracción química. Las más comunes son las celulasas y proteasas que actúan en la separación de la pectina sobre la parte insoluble del material vegetal, lugar donde se encuentra la protopectina, con la despolimerización de la celulosa, hemicelulosa y la proteína presente en el material vegetal.

1.6 Aplicaciones y usos de la pectina

La pectina tiene una extensa aplicación en la industria de los alimentos gracias a sus propiedades como agente gelificante, espesante, texturizante, emulsificante y estabilizador. Según Thankur *et al.* (1997), la pectina se ha utilizado como sustituto de la

grasa o el azúcar en alimentos bajos en calorías, además hace referencia en que dentro de sus estructura existen regiones polares y no polares que permiten su incorporación a diferentes matrices alimentarias brindando una multifuncionalidad. Su aplicación industrial está condicionada al grado de metoxilación y al tamaño de partícula. La gelificación de soluciones de pectina de HM, por ejemplo, se da bajo condiciones estándar con pH de 3,2 – 3,5, azúcar entre 65 – 70 % y pectina entre 1,5 – 2,0 %.

Las mermeladas y jaleas son dos de los principales productos en los que se utilizan grandes cantidades de pectina. Su proceso de elaboración consiste en liberar el zumo de la fruta y la pectina mediante cocción con el fin de lograr una conversión de la protopectina en pectina soluble, pudiéndose añadir en forma de solución o en presentación en polvo acompañado de azúcar como medio de dispersión. Hoy en día existe una tendencia por el consumo de alimentos bajos en calorías por lo que las industrias han tenido que incluir dentro de sus catálogos de oferta alimentos bajos en azúcar. Como alternativa en el desarrollo de dichos productos se emplea pectinas de LM que forman geles en presencia de calcio teniendo como ventaja una gran estabilidad bajo condiciones ácidas.

Muchos de los productos son elaborados con pectina según su funcionalidad, por ejemplo, las pectinas de HM son utilizadas en la elaboración de jaleas de panadería por ser térmicamente estables, de igual manera este tipo de pectinas se utiliza para fabricar caramelos aromatizados, cerezas artificiales o recubrimientos comestibles para inhibir la migración de lípidos en productos de confitería (Thankur *et al.*, 1997).

De igual manera, su aplicación en la industria farmacéutica brinda beneficios en la salud humana, alguno de ellos incluye su efecto sobre la reducción del colesterol en sangre, bálsamos y la fabricación de productos farmacéuticos (Endress, 1991). Adicionalmente, han demostrado su eficiencia con la eliminación de mercurio y plomo del tracto gastrointestinal y de órganos respiratorios. Thankur *et al.* (1997) comentó que al ser inyectada por vía intravenosa, la pectina acorta el tiempo de coagulación en sangre extraída, siendo de gran utilidad para el control de sangrados locales y hemorragias.

La pectina al ser un polisacárido con propiedades diversas le permite ser parte de diferentes procesos en la industria aportando características deseables en los productos finales. En la actualidad las pectinas son estudiadas en el desarrollo de películas biodegradables, presentándose como una alternativa al cambio progresivo de los

materiales plásticos de fuentes no renovables. Sin embargo, presentan inconvenientes por la baja calidad en función de sus propiedades mecánicas y de barrera, viéndose en la necesidad de adicionar agentes de refuerzo que permitan corregir dichos inconvenientes.

Casos como la utilización de extractos de cáscaras de mango en las películas biodegradables para el envasado activo (Adilah *et al.*, 2018), la producción de películas con pectina: celulosa (Bátori *et al.*, 2017) y películas compuestas de pectina/celulosa con comportamientos antimicrobianos y antioxidantes (Ye *et al.*, 2019) son algunos ejemplos de películas basadas en pectina reforzadas que han dado buenos resultados, mejorando las propiedades mecánicas y de barrera.

El desarrollo de las películas biodegradables se presenta como una buena alternativa a la protección del medioambiente, permitiendo construir una hoja de ruta enfocada al aprovechamiento de subproductos generados en la industria que son vistos como desechos o “basura orgánica”. Con el aprovechamiento de los residuos de la industria del café se busca darle un valor agregado, obteniendo a partir de ellos componentes de interés que pueden ser incluidos en el desarrollo de productos novedosos.

2. Capítulo 2: Materiales y Métodos

2.1 Obtención y preparación de la materia prima: mucílago y pulpa de café

Los subproductos agrícolas han despertado gran interés dentro de diversos estudios de investigación gracias a su composición química, principalmente. Es el caso del mucílago y la pulpa de café, quienes desempeñaron un papel fundamental para el desarrollo de esta investigación por su alto contenido de sustancias pécticas, compuesto de interés para el desarrollo de las películas. Los subproductos fueron adquiridos en una finca cafetera situada en el municipio de Jardín (Figura 2-1), localizado en el sur oeste del departamento de Antioquia, Colombia. Cuenta con una superficie de 224 km² y una altitud media de 1750 m.s.n.m. Su economía se centraliza en la agricultura, que además del café, produce plátano, caña, frijol y aguacate.

Figura 2-1: Registro fotográfico de la periferia del municipio de Jardín, Antioquia.



El mucílago de café se obtuvo a través del proceso por desmucilaginado mecánico. Una vez recolectado se filtró para remover el material particulado y se procesó llevándolo a calentamiento (80 °C) por 5 horas en un horno de convección forzada (MEMMERT) con la finalidad de concentrar los sólidos totales, además de reducir la humedad. Posteriormente, se realiza enfriamiento hasta temperatura ambiente, conservándolo en recipientes con capacidad de 100 g (Figura 2-2a) donde finalmente es almacenado bajo congelación para posteriores extracciones de la pectina.

Figura 2-2: Materias primas: (a) mucílago y (b) pulpa de café.



(a)



(b)

La pulpa de café fue procesada secándola en un horno de convección forzada (MEMMERT) a 40 °C por 24 horas. Posteriormente se trituró en un molinillo de café (KRUPS GX4100) seguido del tamizaje (malla No. 80) con el objetivo de mantener un

tamaño de partícula adecuado (Figura 2-2b). La muestra se almacenó en bolsas de polietileno en refrigeración conservando así para los ensayos de la extracción de la pectina.

2.2 Extracción de pectina en mucílago y pulpa: método de hidrólisis ácida

La extracción de pectina en mucílago y pulpa de café se realizó siguiendo la metodología propuesta por Valdespino *et al.* (2021), con algunas modificaciones, evaluando el comportamiento de variables como tiempo y temperatura en función del rendimiento.

Con el objetivo de encontrar un proceso operativo óptimo para la extracción de la pectina, se utilizó un diseño de cribado que consiste en un diseño factorial 2^2 . Los factores evaluados para el mucílago de café fueron: temperaturas de 70 y 80 °C y tiempos de 30 y 45 minutos, de igual manera para la pulpa de café con temperaturas de 70 y 90 °C y tiempos de 30 y 50 minutos. Los ensayos se realizaron con pesos iniciales de 200 g de mucílago de café y de una razón líquido: sólido (RSL) de 7 mL/g para la pulpa, manejando un pH del agua acidulada con ácido cítrico [1 M] de 1,8. Los tratamientos se realizaron por triplicado.

El diseño experimental aleatorizado de la extracción de pectina en mucílago y pulpa de café se observan en la Tabla 2-1 y 2-2, respectivamente. La variable de respuesta corresponde al rendimiento de pectina en el proceso de extracción. Para el diseño experimental y correspondiente análisis estadístico se utilizó el programa Statgraphics Centurion XVI.I (Stat Point, Inc.; USA).

Tabla 2-1: Diseño experimental de extracción de pectina en mucílago de café.

Tratamiento	Bloque	Temperatura (°C)	Tiempo (min)
TM2	1	80	30
TM3	1	70	45
TM4	1	80	45
TM1	1	70	30
TM2	2	80	30
TM3	2	70	45
TM4	2	80	45
TM1	2	70	30
TM2	3	80	30
TM3	3	70	45
TM4	3	80	45
TM1	3	70	30

TMx: tratamiento mucílago de café.

Tabla 2-2: Diseño experimental de extracción de pectina en pulpa de café.

Tratamiento	Bloque	Temperatura (°C)	Tiempo (min)
TP2	1	70	50
TP4	1	90	50
TP3	1	70	30
TP1	1	90	30
TP2	2	70	50
TP4	2	90	50
TP3	2	70	30
TP1	2	90	30
TP2	3	70	50
TP4	3	90	50
TP3	3	70	30
TP1	3	90	30

TPx: tratamiento pulpa de café.

Seguidamente se describe en detalle las etapas involucradas en el proceso de extracción de la pectina presente en los subproductos de la industria cafetera.

▪ **Hidrólisis ácida (calentamiento)**

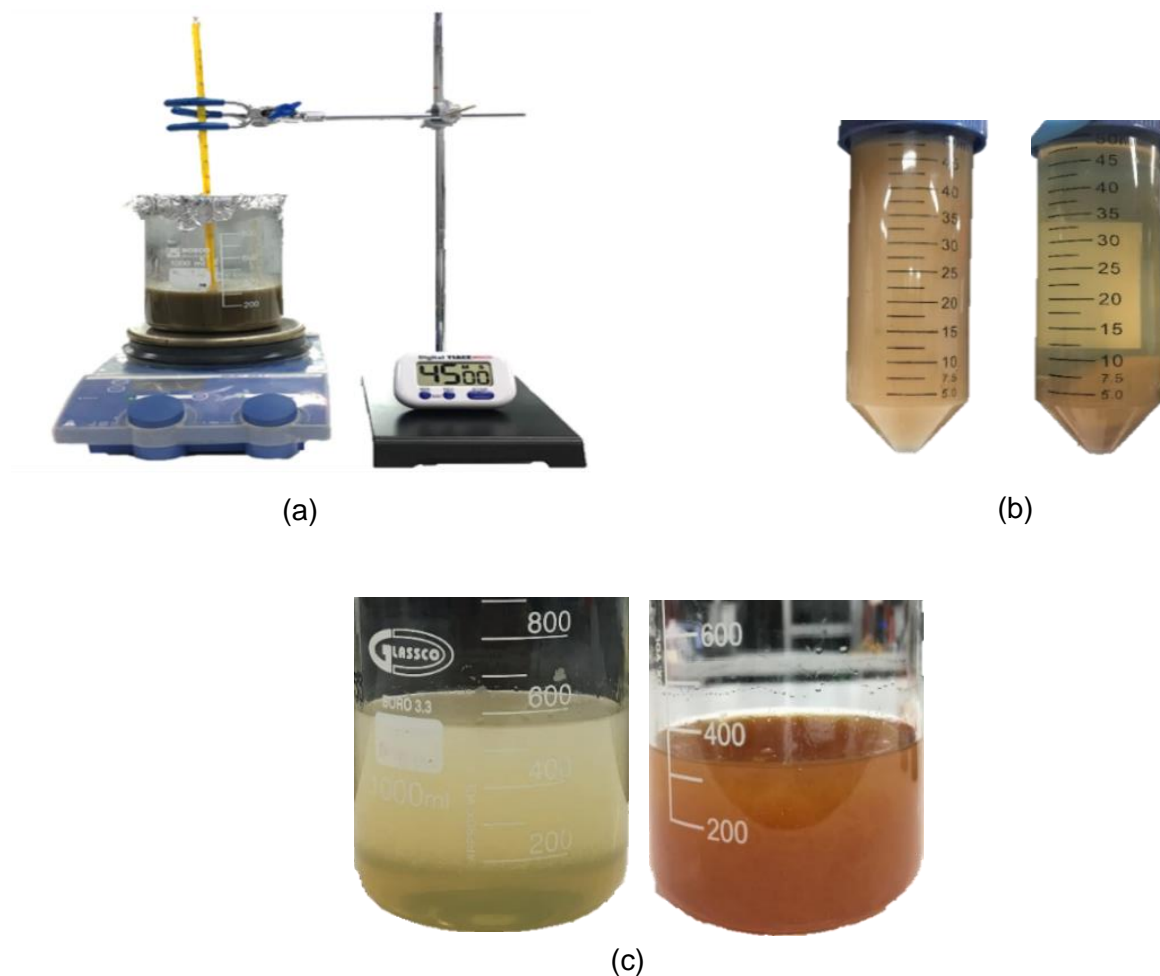
La extracción de pectina se realizó teniendo en cuenta las condiciones de operación que se presentan en la Tabla 2-3, asegurando, además, una agitación constante.

Tabla 2-3: Condiciones de extracción de pectina del mucílago y pulpa de café.

Parámetro	Mucilago	Pulpa
Relación de mucílago/pulpa (g): agua acidulada (mL)	2:1	1:7
Temperatura de extracción (°C)	80	90
Tiempo de extracción (min)	45	50
Concentración del solvente – ácido cítrico (mol/L)	1	1
pH agua acidulada (unidades)	1,8	1,8
pH de hidrólisis (unidades)	~ 2,6	~ 2,5

Finalizado el tiempo de la hidrólisis (Figura 2-3a) la solución resultante se llevó a enfriamiento y posterior remoción de sólidos (Figura 2-3b) mediante el proceso de centrifugación a 7500 rpm y 25 °C por 15 minutos.

Figura 2-3: (a) Extracción de pectina por hidrólisis ácida, (b) remoción de sólidos y (c) precipitación.



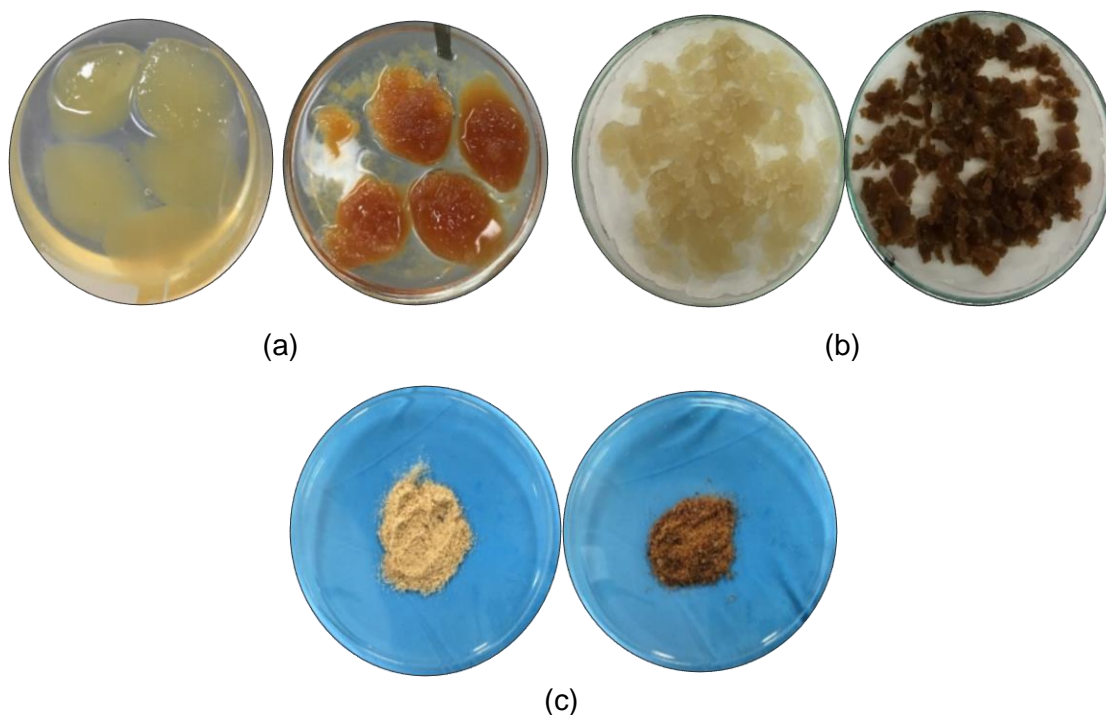
▪ Precipitación de la pectina

El sobrenadante generado en la etapa de remoción de sólidos, que contiene pectina disuelta, fue mezclado con alcohol industrial (96 %) a 4 °C en una relación 1:1 v/v. La solución pectina-alcohol se mezcló, dejando en reposo por 15 minutos (Figura 2 – 3c). La recuperación de la pectina se realizó mediante el proceso de centrifugación (HERMLE Z 366 K, Alemania) bajo condiciones de 7500 rpm y 4 °C durante 10 minutos.

▪ Purificación, secado y almacenamiento

La purificación se realizó con el fin de remover impurezas presentes en la materia prima, así como eliminar residuos del ácido cítrico. Por otro lado, se buscaba con esta etapa, mejorar las características físicas como el color de la pectina (Figura 2-4a). La relación empleada de pectina y alcohol industrial fue de 1:1 p/p. La pectina fue recuperada por centrifugación a 7500 rpm y 25 °C durante 10 minutos. Este proceso de purificación se realizó una sola vez con el fin conservar el color natural de las pectinas, además de minimizar un alto consumo de alcohol.

Figura 2-4: (a) Purificación, (a) secado y (c) almacenamiento de la pectina de mucílago y pulpa de café.

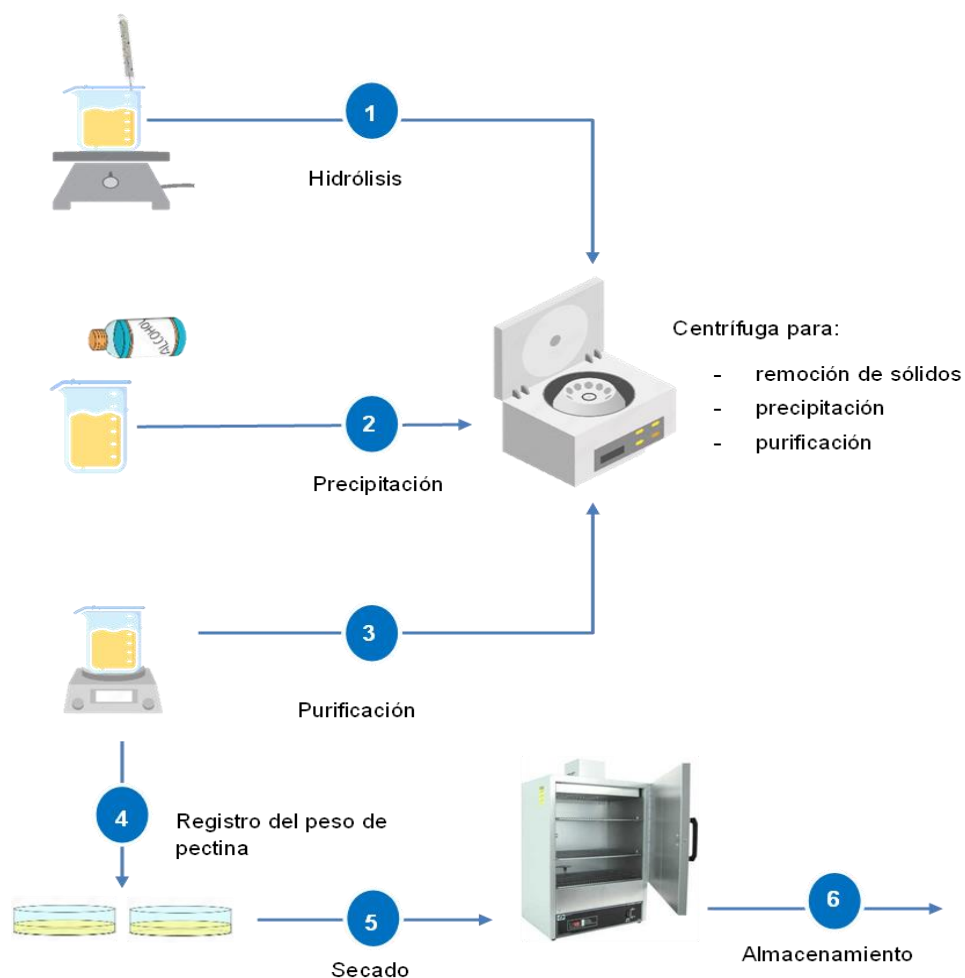


El proceso de secado se llevó a cabo con una temperatura de 30 °C en un horno de convección forzada durante 24 horas. Se registró su peso antes y después del secado para conocer su porcentaje (%) de rendimiento. El rendimiento de la pectina se calculó en base seca siguiendo la ecuación 2-1.

$$\% R = \frac{\text{pectina extraída (g)}}{\text{peso en seco de la muestra (g)}} \times 100 \quad (2-1)$$

Finalmente, la pectina fue triturada (Figura 2-4c) en un molinillo de café (KRUPS GX4100), tamizada y almacenada en bolsas de polietileno dentro de un desecador para controlar la humedad y conservarla para posteriores análisis y formulación de películas. El proceso general de la extracción de pectina se muestra en la Figura 2-5.

Figura 2-5: Esquema general del proceso de extracción de pectina por método de hidrólisis ácida (calentamiento).



2.3 Caracterización fisicoquímica de la pectina

2.3.1 Peso equivalente, acidez libre y contenido de metoxilo

▪ Peso equivalente y acidez libre

El peso equivalente se determinó según el método descrito por Ranganna (1986) con algunas modificaciones. Se pesó 0,5 g de pectina seca, seguidamente se depositó en un matraz cónico de 250 mL agregando 5 mL de alcohol industrial (96 %). Posteriormente, se añadió 1 g de cloruro de sodio (NaCl) y 100 mL de agua destilada, adicionando 6 gotas de rojo fenol como indicador. Se mantuvo en agitación constante hasta que la pectina fue disuelta completamente. La solución se tituló lentamente con hidróxido de sodio (NaOH) 0,1 N hasta evidenciar el cambio de color del indicador (pH 7,5), contando a partir de ese momento 30 segundos. El peso equivalente y la acidez libre se calcularon utilizando las ecuaciones 2-2 y 2-3, respectivamente.

$$PE = \frac{\text{peso muestra (g)} \times 1000}{\text{mL NaOH} \times \text{Normalidad NaOH}} \quad (2-2)$$

$$AL = \frac{\text{mL NaOH} \times \text{Normalidad NaOH}}{\text{peso muestra (g)}} \quad (2-3)$$

▪ Contenido de metoxilo

Se determinó con la solución neutra titulada en la prueba de peso equivalente. Se añadió 25 mL de Hidróxido de sodio (NaOH) a 0,25 N, dejando reposar por 30 minutos a temperatura ambiente en un matraz con tapón. Finalizado el tiempo, se añadió 25 mL de ácido clorhídrico (HCL) a 0,25 N. Se procedió a valorar la solución con 0,1 N de NaOH hasta que viró a color magenta. El contenido de metoxilo se determinó siguiendo la ecuación 2-4.

$$\% \text{ CM} = \frac{\text{mL NaOH} \times \text{Normalidad NaOH} \times 3,1}{\text{peso muestra}} \quad (2-4)$$

Donde 3,1 es el peso del metoxilo (CH_3O^-).

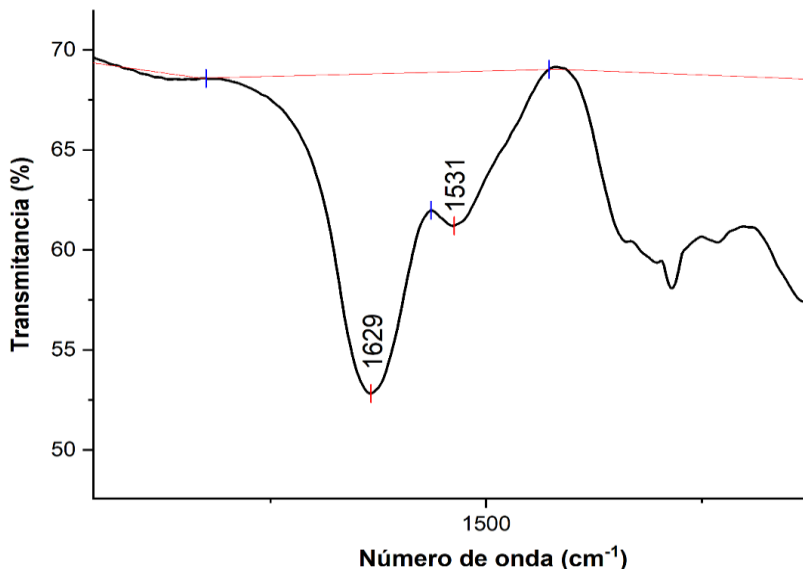
2.3.2 Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)

El análisis para la identificación de los grupos funcionales de la pectina se realizó mediante el método de espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR). Los espectros se registraron en el equipo Shimadzu IR Trace 100 (Perkin Elmer, EUA) utilizando un rango espectral de 500 a 4000 cm^{-1} en modo transmitancia. La resolución de medición fue de 4 cm^{-1} y el análisis se realizó con el método de disco de bromuro de potasio (KBr).

De igual manera, y a través del método, se determinó el DE siguiendo la metodología realizada por Muhammad (2020), que consistió en calcular las áreas de los picos de los grupos carboxilos esterificados y no esterificados (Figura 2-6) . Para calcular el DE se utilizó la ecuación 2-5.

$$\text{DE (\%)} = \frac{\text{APGCE}}{\text{APGCE} + \text{APGCNE}} \times 100 \quad (2-5)$$

Donde APGCE es el área de los picos de los grupos carboxilos esterificados y APGCNE es el área de los picos de los grupos carboxilos no esterificados.

Figura 2-6: Determinación del grado de esterificación mediante interpretación FTIR.

Análisis del DE en pectina de la pulpa de café.

La metodología del análisis por espectroscopía permitió, además, realizar el análisis en las películas poliméricas por el método de reflectancia difusa (DRIFTS), técnica especial de muestreo de reflexión que permite obtener espectros de gran calidad de muestras sólidas que son muy complejas de analizar por transmisión.

2.3.3 Análisis termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico se realizó usando el equipo TA Instruments modelo SDT Q600. Las muestras, tanto de las pectinas como de las películas, fueron sometidas a calentamiento bajo un rango de temperatura de 30 a 600 °C con una rampa de calentamiento de 10 °C/min aplicando un ambiente de nitrógeno atmosférico.

2.3.4 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Se utilizó un microscopio electrónico de barrido marca JEOLJSM-700 que operó a una tensión de aceleración de 15,0 kV para el caso de las pectinas y de 10kV para las películas poliméricas. Dicha prueba permitió analizar la morfología de la pectina, de igual manera la toma superficial y transversal de las películas.

2.3.5 Cromatografía líquida de alta definición (HPLC)

Las pectinas de mucílago y pulpa de café fueron hidrolizadas tomando un peso inicial de muestra de 100 mg para cada una. Se tuvo en cuenta una relación de 1:30 (p/v) con 80 U de pectinasa, pH 4 (tampón citrato 0,1 M) y 30 °C bajo agitación constante (200 rpm) por un tiempo de 2 horas en un agitador UNIMAX 1010 (Heidolph). Cumplido el tiempo de la hidrólisis, las muestras se almacenaron por 24 horas a 4 °C. Posteriormente, las muestras hidrolizadas se filtraron con ayuda de un filtro de jeringa de 0,25 µm llevando la solución hidrolizada a viales con una relación de 1:10 de muestra y agua de tipo I para el análisis de ácido galacturónico, arabinosa, glucosa y xilosa en un cromatógrafo de líquidos de alta definición (Shimadzu CBM-20A W) equipado con un detector de índice de refracción (RID) utilizando una columna Aminex HPX-87C (300 mm x 7,8 mm x 9 µm; Bio-Rad) y agua tipo I como fase móvil a una velocidad de 0,6 mL/min en modo isocrático. La columna trabajó a una temperatura de 65 °C, un volumen de inyección de 20 µL y un tiempo total de ejecución de 15 minutos. La cuantificación se realizó utilizando curvas de calibración con ácido D (+) galacturónico (Sigma-Aldrich 73960) y kit de azúcares (Sigma-Aldrich).

2.4 Formulación y caracterización de películas a partir de pectina de mucílago y pulpa de café

2.4.1 Formulación de películas

El proceso de formulación de las películas basadas en pectinas extraídas del mucílago y pulpa de café se realizó a través de 4 formulaciones (Tabla 2-4) con una composición base de 2 g de pectina, 22 % de glicerol como plastificante y 10 % de Tween 20 como emulsificante. La diferencia entre formulaciones consistió según el agente de refuerzo, siendo la primera formulación sin la presencia de dichos agentes, la segunda formulación con un 5 % de extracto de borra de café, la tercera formulación con el 37 % de celulosa bacteriana (Figura 2-7) y la cuarta formulación con la adición de ambos agentes de refuerzo bajo la misma proporción.

Las formulaciones con presencia de celulosa tuvieron una etapa previa que implicaba la trituración de la celulosa bacteriana utilizando el equipo de ultra turrax marca IKA (modelo

T25 D S1), dicho proceso se realizó con el fin de obtener una total homogenización e incorporación en la solución fílmica.

En la Figura 2-8 se muestra cada una de las etapas del desarrollo de las películas la cual se da con el inicio de la homogenización de la solución, ya sea agua/pectina/celulosa o agua/pectina por un tiempo de 45 minutos. Seguidamente, la solución se somete a calentamiento (40 °C) por 20 minutos en simultaneo con la solución de glicerol/Tween 20/extracto de borra o glicerol/Tween 20, teniendo en cuenta la formulación. Ambas soluciones se mezclan y se llevan a la misma temperatura por otros 20 minutos, garantizando una agitación constante.

La solución se homogenizó en el ultra turrax por 3 minutos para posteriormente ser desgasificada bajo condiciones de 40 °C por 15 minutos. La solución fílmica es vertida en cajas Petri, previamente limpias y secas, con 20 g solución cada una llevándolas a la etapa de secado con temperatura de 30 °C por 24 horas.

Finalmente, las películas fueron acondicionadas en una cámara climática con un tiempo de 48 horas bajo condiciones de humedad relativa de 50 % HR y 25 °C para posteriores análisis de caracterización.

Tabla 2-4: Formulaciones de películas basadas en pectina de mucílago y pulpa de café.

Código *	Pectina (g)	Celulosa bacteriana (%)	Extracto de borra de café (%)	Glicerol (%)	Tween 20 (%)
M001	2	0	0	22	10
M002	2	0	5	22	10
M003	2	37	0	22	10
M004	2	37	5	22	10
P001	2	0	0	22	10
P002	2	0	5	22	10
P003	2	37	0	22	10
P004	2	37	5	22	10

*M: pectina de mucílago de café y P: pectina de pulpa de café.

Los porcentajes de los componentes (glicerol, Tween 20, celulosa y extracto de borra) en la formulación fueron pesados en base del peso de la pectina.

Figura 2-7: Celulosa bacteriana como agente de refuerzo.

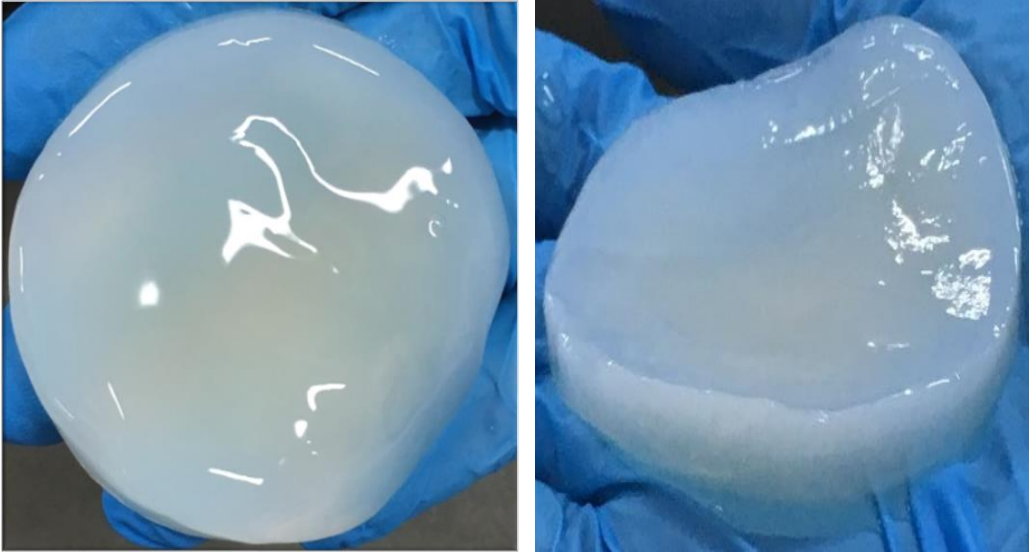
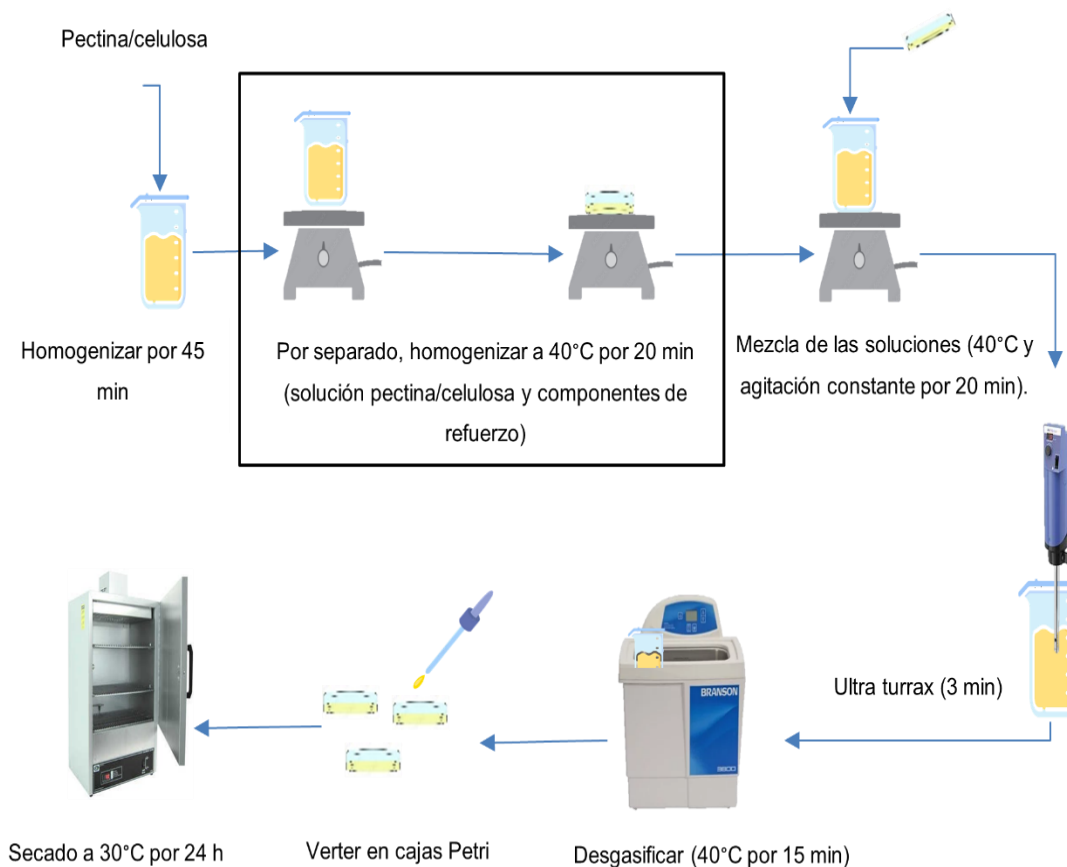


Figura 2-8: Etapas del proceso para el desarrollo de películas basadas en pectinas.

2.4.2 Caracterización fisicomecánica de las películas

Con la caracterización de las películas se busca evaluar el potencial para su aplicación en la industria de los alimentos, determinando la calidad del biomaterial resultante basado en los resultados obtenidos en las pruebas fisicomecánicas y de solubilidad en agua.

▪ Solubilidad en agua

Se determinó mediante el procedimiento descrito por Wu *et al.* (2013), con algunas modificaciones. Las películas se cortaron en dimensiones de 2 cm x 2 cm y se secaron a 105 °C durante 24 horas. A continuación, se registró el peso de las películas (P_0) y se sumergieron en 30 mL de agua destilada utilizando el agitador Unimax 1010 (HEIDOLPH) a 25 °C y 50 rpm por 24 horas. Los restos insolubles de las películas fueron filtrados y

secados a 105 °C en un horno de convección forzada por 24 horas (P₁). La solubilidad en agua (S) de las películas se determinó siguiendo la ecuación 2-6.

$$S = \frac{P_0 - P_1}{P_0} * 100 \% \quad (2-6)$$

▪ Prueba mecánica

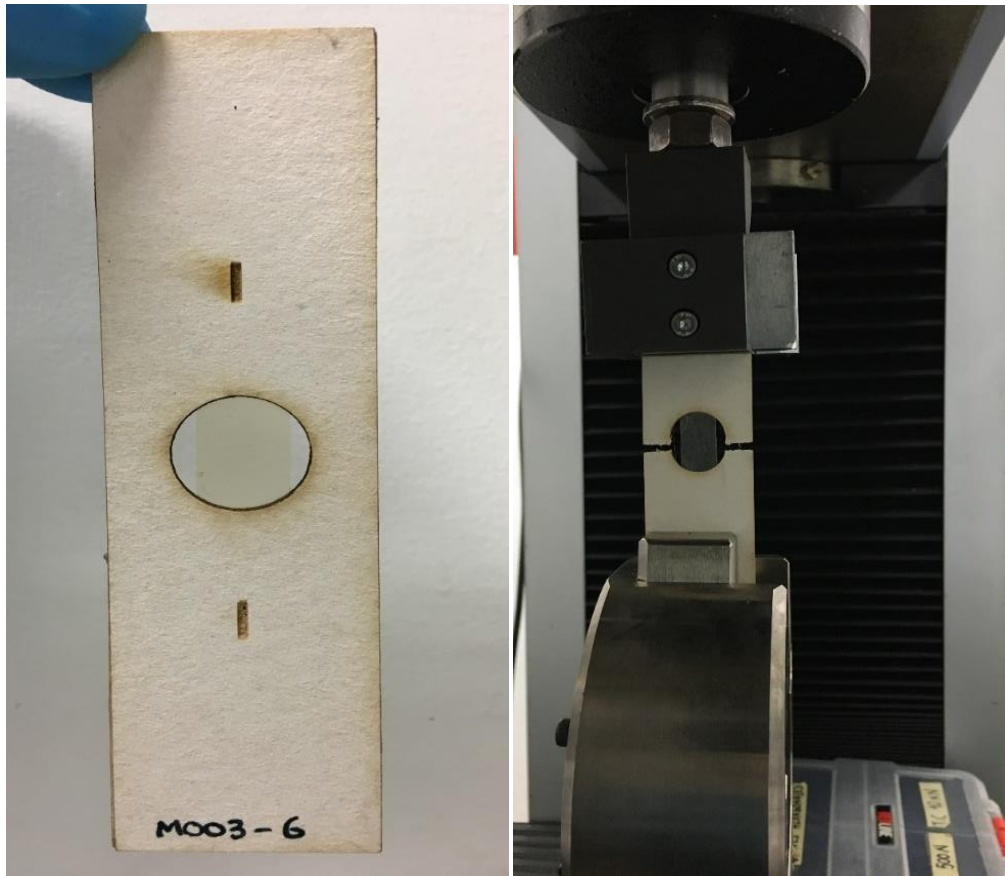
Las mediciones del espesor de la película se realizaron en 6 puntos diferentes de cada muestra con un micrómetro (Guilin, China) calculando los valores medios.

Las muestras fueron acondicionadas previamente en cámara climática bajo condiciones de 50 % HR y 25 °C. Se siguió la norma ASTM D638 empleando la máquina universal SHIMADZU (AGX-V). Las películas fueron cortadas con medidas de 1 cm x 5 cm en probetas (Figura 2-9), operando con un estiramiento con velocidad de cruceta de 1 mm/min y una separación de agarre inicial de 50 mm. Los resultados fueron la media de 4 muestras por tratamiento. El porcentaje de alargamiento (E %) y la resistencia a la tracción (TS) de la película fueron calculados siguiendo la ecuación 2-7 y 2-8, respectivamente.

$$E\% = \frac{L - L_1}{L_1} * 100\% \quad (2-7)$$

$$TS = \frac{\text{Fuerza máxima (N)}}{\text{Espesor (mm) x anchura (mm)}} \quad (2-8)$$

Figura 2-9: Prueba mecánica en la máquina universal.



2.4.3 Biodegradabilidad de películas

El estudio de la biodegradabilidad de las películas fue realizado a través de dos procedimientos: biodegradación bajo suelo y exposición al ambiente exterior. Los tiempos de análisis fueron de 16 días para la prueba bajo suelo y de 48 días para aquellas muestras expuestas al medio exterior, ambas pruebas realizadas bajo condiciones ambientales no controladas. Cada tratamiento se realizó por duplicado para ambos procedimientos.

- **Biodegradabilidad de películas bajo suelo**

Se siguió el procedimiento descrito por Quader *et al.* (2015), con algunas modificaciones. Inicialmente las películas se cortaron en dimensiones de 3 cm cada lado, con un perímetro inicial de 81 cm. A continuación, se realizó el registro del peso y el perímetro inicial de las muestras que finalmente se llevaron a una profundidad de 8 cm del suelo.

El registro de los datos se realizó diariamente. Para ello, se extrajeron las muestras con especial cuidado al momento de limpiarlas. Seguidamente, se llevaron al horno de convección forzada a una temperatura de 40 °C por 20 minutos, inmediatamente se llevaron a un deseador por 20 minutos más. Se registró el peso y el perímetro de las muestras para posteriormente llevarlas al suelo.

▪ **Biodegradación de películas con exposición al aire**

Esta prueba de biodegradabilidad nace como propuesta con el objetivo de estudiar los efectos generados en las películas expuestas en un ambiente bajo condiciones climáticas no controladas, así como posibles ataques de microorganismos presentes en el ambiente.

El procedimiento consistió en cortar las películas con dimensiones de 2 cm cada lado, con perímetro inicial de 16 cm, toma de registro de peso inicial y finalmente llevadas al lugar de estudio previamente seleccionado. El seguimiento de la pérdida de peso y del perímetro en función del tiempo se realizó cada 4 días.

3. Capítulo 3: Resultados y discusión

3.1 Extracción de pectina: efecto de los parámetros operacionales

El rendimiento y la calidad de un producto son algunos de los indicadores importantes dentro de los procesos industriales. Los resultados obtenidos de la extracción de pectina en función del rendimiento se indican en la Tabla 3-1.

Tabla 3-1: Rendimiento de extracción de la pectina en mucílago y la pulpa de café.

Tratamiento	Rendimiento (%)	Tratamiento	Rendimiento (%)
TM2	8,94	TP2	2,98
TM3	9,79	TP4	6,25
TM4	10,85	TP3	3,67
TM1	8,86	TP1	6,40
TM2	7,91	TP2	3,00
TM3	8,84	TP4	5,93
TM4	11,30	TP3	3,79
TM1	8,57	TP1	5,31
TM2	6,39	TP2	3,74
TM3	7,10	TP4	6,23
TM4	10,78	TP3	4,01
TM1	8,51	TP1	5,21

TM: tratamientos con pectina de mucílago de café y TP con pectina de pulpa de café.

El análisis estadístico de los resultados experimentales en la extracción de pectina en mucílago de café, expresado mediante un diagrama de Pareto estandarizado, se muestra en la Figura 3-1. Los resultados indican que el tiempo y la interacción tiempo/temperatura presentaron un $P < 0,05$, indicando un efecto significativo con un nivel de confianza del 95 %. Asimismo, las variables tiempo, temperatura y la interacción de ambas mostraron tener una contribución positiva al rendimiento de la extracción, siendo la temperatura el factor evaluado menos relevante del proceso.

La interacción de los factores, como se aprecia en la Figura 3-2, indica que el tratamiento TM4 realizado a 80 °C y 45 minutos fue el mejor escenario para la extracción de la pectina en mucílago de café, con un rendimiento en promedio de $10,98 \pm 0,28$ %.

Figura 3-1: Diagrama de Pareto estandarizado para rendimiento de extracción de pectina en mucílago de café.

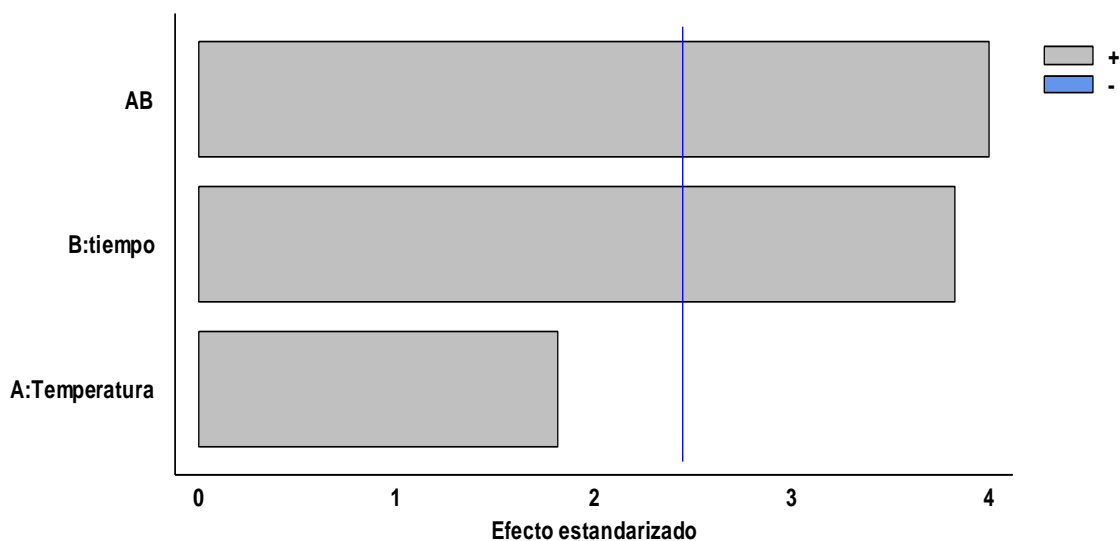
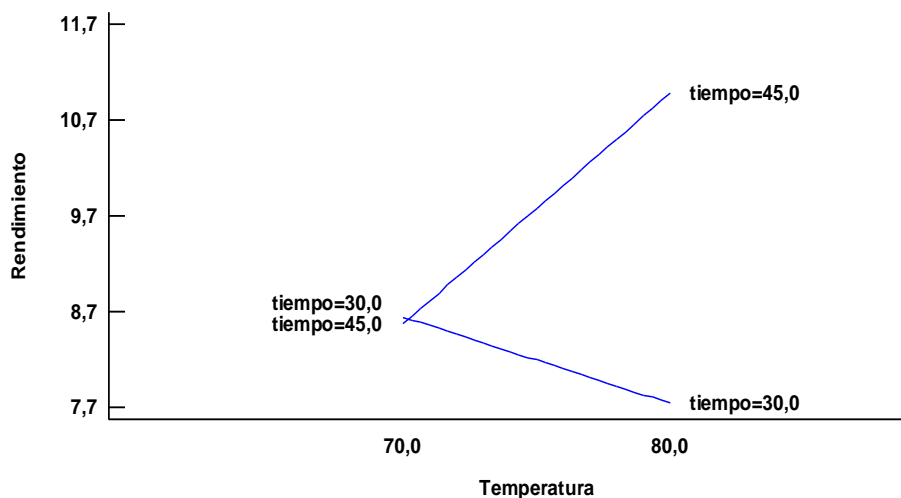


Figura 3-2: Gráfica de interacción para rendimiento de extracción de pectina en mucílago de café.



La Tabla 3-2 presenta los resultados correspondientes al rendimiento de extracción y el grado de esterificación de la pectina (DE) en el mucílago de café, indicando que el tiempo de extracción es una variable que influye en el proceso, donde su variación puede alterar los rendimientos y la calidad fisicoquímica de la pectina. El estudio muestra que las variables analizadas tienen relación directa con el rendimiento y que al aumentar el tiempo y la temperatura se incrementaría la hidrólisis de los enlaces de la protopectina llegando a originar pectina con un DE de $87,93 \pm 1,54$ %. Lo anterior y de acuerdo con los resultados estadísticos, la interacción del tiempo y la temperatura dan origen a las condiciones óptimas de extracción de la pectina presente en este subproducto.

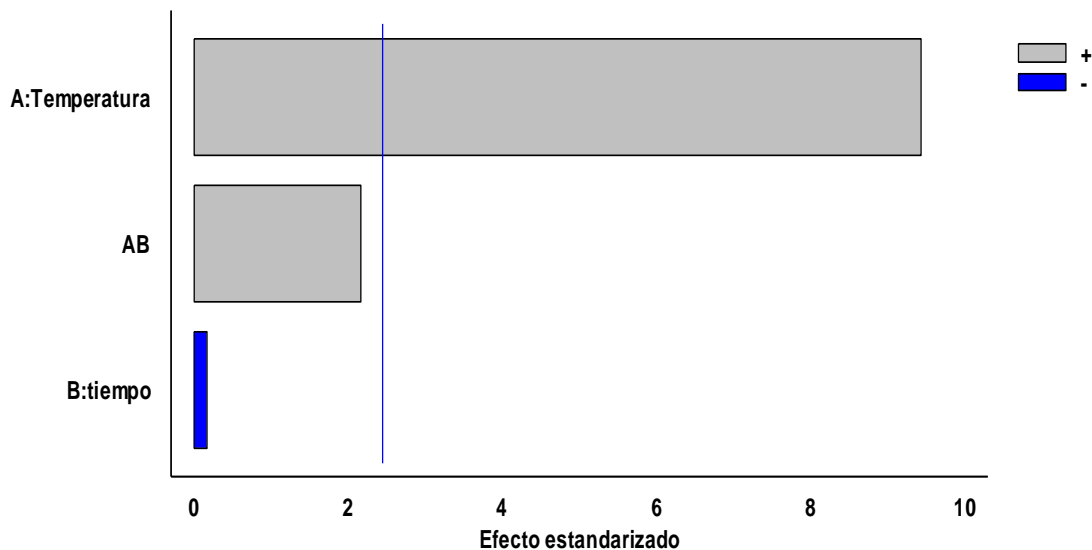
Tabla 3-2: Rendimiento y grado de esterificación en la extracción de pectina en mucílago de café.

Tratamiento	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Rendimiento de extracción * (%)	Grado de esterificación (%)**
M1	70	30	8,65 ± 0,19	50,74 ± 0,06
M2	80	30	7,75 ± 1,28	71,98 ± 0,03
M3	70	45	8,58 ± 1,36	79,01 ± 0,16
M4	80	45	10,98 ± 0,28	87,93 ± 1,54

*Rendimiento (%) en base seca por triplicado, ** lectura por duplicado.

Los resultados en el diseño experimental de extracción de pectina en la pulpa de café se muestran mediante un diagrama de Pareto estandarizado en la Figura 3-3, dejando ver que la temperatura tiene un efecto significativo en el proceso de extracción con $P < 0,05$, indicando significancia estadística con un nivel de confianza del 95 %. El diagrama muestra, además, que el factor tiempo tiene una contribución negativa en la extracción llegando a considerarse como un factor poco relevante para este estudio.

Figura 3-3: Diagrama de Pareto estandarizado para rendimiento de extracción en pulpa de café.



La interacción de los factores, como se aprecia en la Figura 3-4, indica que el tratamiento TP4 realizado a 90 °C y 50 minutos fue el mejor de los escenarios para la extracción de la pectina en la pulpa de café, alcanzando un rendimiento de extracción de $6,14 \pm 0,18$ %. Asimismo, los resultados correspondientes al rendimiento y el grado de esterificación de la pectina (Tabla 3-3) indican que la temperatura de extracción fue una variable con alta incidencia en el proceso extractivo en el que su variación puede alterar los rendimientos y la calidad fisicoquímica de la pectina. En el caso de los tratamientos P1 y P3, con un tiempo de extracción de 30 minutos y con una variación de la temperatura de 90 °C y 70 °C, respectivamente, presentó una respuesta significativa el tratamiento P1, con un rendimiento de $5,64 \pm 0,66$ % frente al tratamiento P3 con $3,82 \pm 0,17$ %.

La interacción tiempo y temperatura, presentó un efecto positivo en el proceso de extracción. Los resultados revelaron que, a una temperatura de 70 °C, el tratamiento P2 con un tiempo de extracción de 50 minutos, tuvo un rendimiento de $3,24 \pm 0,43$ %, resultado menor frente al rendimiento del tratamiento P3 realizado a 30 minutos con un promedio de $3,82 \pm 0,17$ %. Sin duda, un efecto inverso a los resultados obtenidos en la extracción de pectina en el mucílago de café, indicando que el tiempo es una variable de incidencia junto con la temperatura para el caso en particular.

Figura 3-4: Gráfica de interacción para rendimiento de extracción de pectina en pulpa de café.

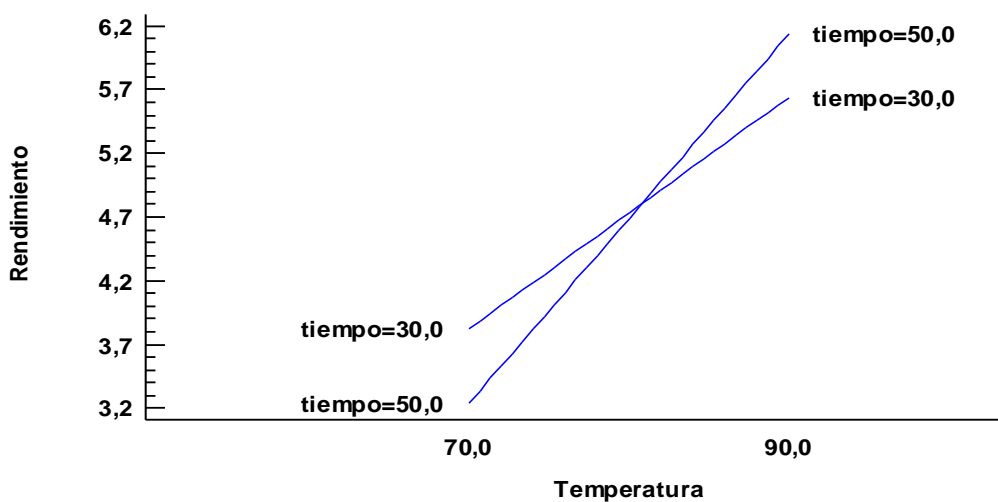


Tabla 3-3: Rendimiento y grado de esterificación en la extracción de pectina en pulpa de café.

Tratamiento	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Rendimiento de extracción* (%)	Grado de esterificación** (%)
P1	90	30	$5,64 \pm 0,66$	$72,69 \pm 0,13$
P2	70	50	$3,24 \pm 0,43$	$65,08 \pm 0,02$
P3	70	30	$3,82 \pm 0,17$	$68,02 \pm 0,49$
P4	90	50	$6,14 \pm 0,18$	$75,76 \pm 0,45$

*Rendimiento (%) en base seca por triplicado, ** lectura por duplicado.

Los resultados conseguidos en la extracción de pectina de mucílago y pulpa de café presentaron valores cercanos a los reportados por Yu *et al.* (2021), quienes estudiaron el efecto de diferentes métodos de extracción empleando tres temperaturas (60, 70 y 80 °C) alcanzándose un 18,9 % de rendimiento a una temperatura de 80 °C en el orujo de cidra. Los autores expresan, además, que el aumento del rendimiento se vincula a la disrupción de las células vegetales a temperaturas elevadas y a su rápida separación y disolución de la pectina.

Definida las variables del método de extracción, se procedió a determinar la calidad fisicoquímica y estructural de la pectina mediante métodos químicos como la determinación del contenido de metoxilo, peso equivalente, acidez libre, análisis termogravimétrico y microscopía electrónica de barrido.

3.1.1 Análisis fisicoquímico y estructural de la pectina

El análisis del estudio de la caracterización fisicoquímico y estructural se realizó a las pectinas obtenidas bajo las condiciones óptimas del proceso. Estas corresponden a los tratamientos M4 y P4 de las pectinas de mucílago y pulpa de café, respectivamente. Los resultados se muestran en la Tabla 3-4.

Una de las pruebas analizadas fue el peso equivalente, que corresponde al número de unidades de ácido urónico anhidro y al grado de esterificación. Los resultados obtenidos fueron contrastados con una pectina comercial la cual presentó un peso equivalente mayor al de las pectinas de mucílago y pulpa de café. La diferencia se debe, según Valdespino León *et al.* (2021), a un predominio de grupos carboxilos que no se esterificaron durante el proceso de hidrólisis. Por otro lado, la acidez libre en la pectina de pulpa de café fue de 1,54 meq/g, superior a la acidez de la pectina comercial (0,55 meq) y a la del mucílago de café (0,89 meq/g), este último con un resultado similar a la acidez de la pectina extraída del mango de azúcar con un $0,86 \pm 0,02$ meq/g (Barreto *et al.*, 2017). Resultado que puede estar asociado al contenido de ácido galacturónico en la estructura del polímero.

Como se sabe, la pectina presenta una clasificación de alto metoxilo (HM) o de bajo metoxilo (LM) con base a los parámetros químicos como el porcentaje de metoxilo (% R-OCH₃) y del ácido galacturónico (% GalA). La literatura indica que una pectina HM debe

contener no menos de 6,7 % de contenido de metoxilo y un valor superior al 50 % de contenido de ácido galacturónico. Lo anterior indica que la pectina de mucílago de café (Tabla 3-4), quien registró valores dentro de los rangos mencionados, se clasifica como pectina de alto metoxilo. Estos resultados en la pectina de mucílago fueron análogos a los reportados por Valdespindo León *et al.* (2021), quienes obtuvieron un valor de peso equivalente de 1476 g/eq, acidez libre de 0,72 meq y un contenido de metoxilo de 6,21 %. En el caso de la pectina de pulpa de café no hay claridad sobre su posible clasificación, pese a que registró un grado de esterificación de 72,74 %, su contenido de metoxilo estuvo por debajo del límite con un 4,85 %. No obstante, se ha reportado en la literatura casos similares, como por ejemplo el de una pectina comercial de manzana que registró un grado de esterificación de 80,19 % y contenido de metoxilo del 1,78 % (Arriola Delia & Garcia Ricardo, 1985). Finalmente, se ha recomendado para este tipo de eventos realizar otros análisis espectroscópicos Raman, HPLC, entre otros; con el fin de poder determinar el tipo de polímero extraído.

Tabla 3-4: Caracterización fisicoquímica de las pectinas.

Prueba	Pectina mucílago de café	Pectina pulpa de café	Pectina comercial
Peso equivalente (mg/meq)	1127,94 ± 3,24	647,57 ± 4,46	1825,29 ± 5,70
Acidez libre (meq/g)	0,89 ± 0,00	1,54 ± 0,01	0,55 ± 0,00
Contenido de metoxilo (%)	7,05 ± 0,27	4,85 ± 0,26	7,01 ± 0,22
Grado de esterificación DE (%)	81,40 ± 2,08	72,74 ± 0,32	59,29 ± 1,18

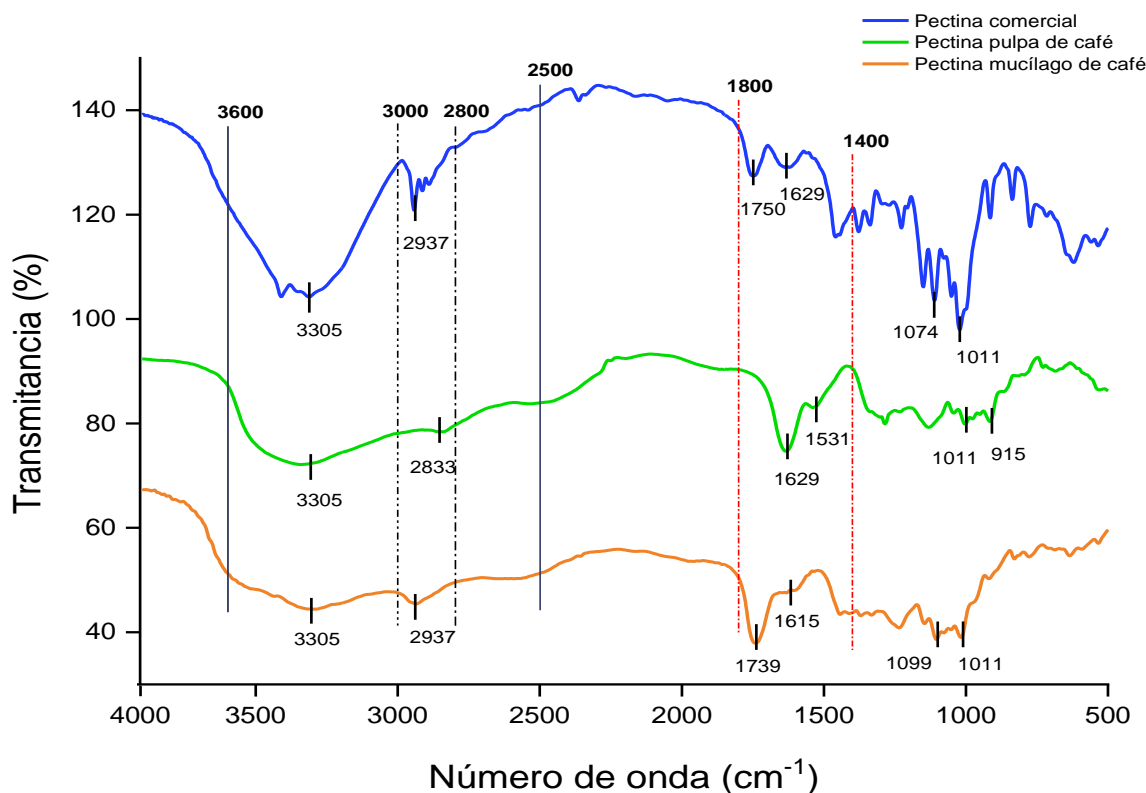
Cada resultado es la media de al menos tres repeticiones ± desviación estándar.

▪ **Análisis de pectinas por espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR).**

Los espectros FTIR de las pectinas de mucílago de café, pulpa de café y pectina comercial se muestran en la Figura 3-5. Los resultados dejan ver espectros similares en las pectinas analizadas en términos de la caracterización de los grupos funcionales presentes. La zona amplia de absorción entre 3600 y 2500 cm⁻¹ (3305 cm⁻¹) correspondió al estiramiento del grupo hidroxilo (OH) (Faravash & Ashtiani, 2007) y se encuentra relacionada con las

vibraciones de los enlaces de hidrógeno inter e intramoleculares del ácido galacturónico (GalA) del polímero (Santos et al., 2020). Los picos entre $2833 - 2937 \text{ cm}^{-1}$, ubicados en la zona de absorción entre $3000 - 2800 \text{ cm}^{-1}$, se atribuyeron al estiramiento simétrico y asimétrico del grupo funcional C-H (Gharibzahedi *et al.*, 2019). Los picos presentes en las regiones entre $1640 - 1750 \text{ cm}^{-1}$ y $1630 - 1400 \text{ cm}^{-1}$ fueron relacionados a los grupos carboxilos esterificados y libres de las unidades de GalA, respectivamente. Como se muestra en la Figura 3-5, la región entre $1640 - 1750 \text{ cm}^{-1}$ ($1739, 1629$ y 1750 cm^{-1}), correspondiente a los grupos de ácido carboxílico esterificados fue mucho más pronunciado en las pectinas de mucílago y pulpa de café con respecto a la pectina comercial, mientras la región entre $1630 - 1400 \text{ cm}^{-1}$ ($1615, 1531$ y 1629 cm^{-1}), asignada a los grupos carboxílicos libres, fue más intenso en la pectina comercial.

En la región entre $1074 - 1043 \text{ cm}^{-1}$ se observaron dos picos que se caracterizan por ser los enlaces glicosídicos entre las unidades de azúcar presentes en el polímero (Chen et al., 2014), dichos picos fueron revelados entre $1099-1011 \text{ cm}^{-1}$, $1011 - 915 \text{ cm}^{-1}$ y $1074 - 1011 \text{ cm}^{-1}$ en las pectinas analizadas de mucílago, pulpa y comercial, respectivamente. Finalmente, otras de las regiones a destacar se encuentran entre 1200 y 800 cm^{-1} . De acuerdo con la literatura, dicha región se denomina popularmente como la región de la “huella digital” o “huella fina” propia de un compuesto.

Figura 3-5: Espectros FTIR de pectinas.

▪ Análisis termogravimétrico (TGA) en pectinas

Las Figuras 3-6 y 3-7 presentan los termogramas para las pectinas de mucílago y pulpa de café, respectivamente. Los resultados mostraron una similitud con 4 eventos principales de descomposición térmica, así como las pérdidas de masa.

El primer evento registró una pérdida de masa a una temperatura por debajo de los 100 °C con el 10,37 y 10,83 % en pérdida de masa para la pectina de mucílago y pulpa de café, respectivamente. La pérdida de masa en este primer evento está asociada con la liberación de moléculas de agua presentes en las pectinas. Una investigación llevada a cabo por Akinalan Balik, Argin, Lagaron & Torres-Giner (2019) evidenciaron una evaporación de agua de la pectina en un rango de temperatura entre 75 – 110 °C atribuyendo a su naturaleza altamente hidrofílica.

Un segundo y tercer evento se registraron con pérdidas de masa de 8,90 – 35,57 % (159 – 239°C) y 20,34 – 20,25 % (191 – 238 °C) en la pectina de mucílago y pulpa de café, correspondientemente. Dentro de este rango de temperaturas se asocia a una pérdida de masa con la disgregación pirolítica de la pectina y de acuerdo a lo afirmado por Santos et al. (2020), se debe a la descarboxilación primaria y secundaria del polímero, así como la posible ruptura de enlaces o grupos funcionales junto con el rompimiento de la cadena. La pectina de mucílago de café perdió entonces el 54,90 % de su peso total hasta los 300 °C mientras que, en el rango de temperatura entre 300 – 600 °C, la pérdida de masa fue de 19,02 % de su peso inicial y donde la tasa máxima de pérdida de peso se observó a 239 °C. La pectina de pulpa de café, por el contrario, registró una pérdida de 51,42 % de su peso total hasta los 300 °C, habiendo un porcentaje de pérdida en masa de 19,96 % de su peso inicial en el rango de temperatura entre los 300 – 600 °C. Los resultados expusieron que la tasa máxima de pérdida de peso se estableció a una temperatura de 191 °C. Finalmente, Akinalan *et al.* (2019) aseguraron que durante la degradación térmica de la pectina se produce una serie de reacciones de despolimerización y que por encima de los 250 °C se produce la degradación secundaria de la pectina atribuida a los sucesos ya mencionados, como la liberación de los grupos funcionales laterales y la ruptura de las cadenas, mientras que la gasificación de los residuos, como el carbón, surgen en rangos de temperatura entre 600 – 800 °C.

Figura 3-6: Termograma de la pectina de mucílago de café.

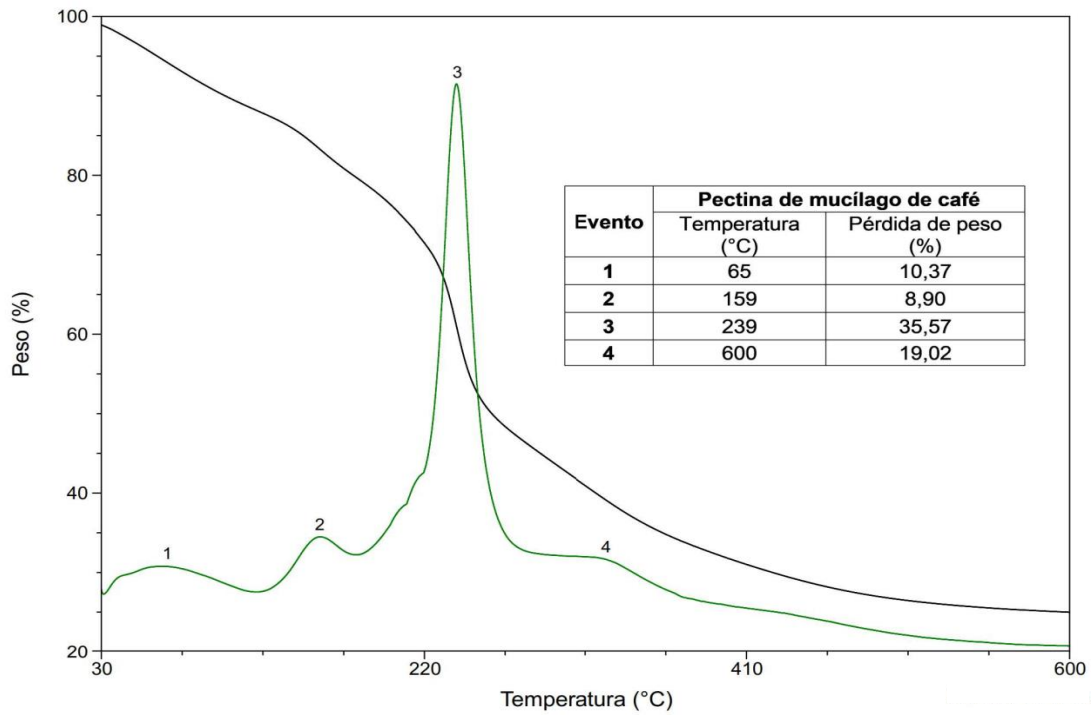
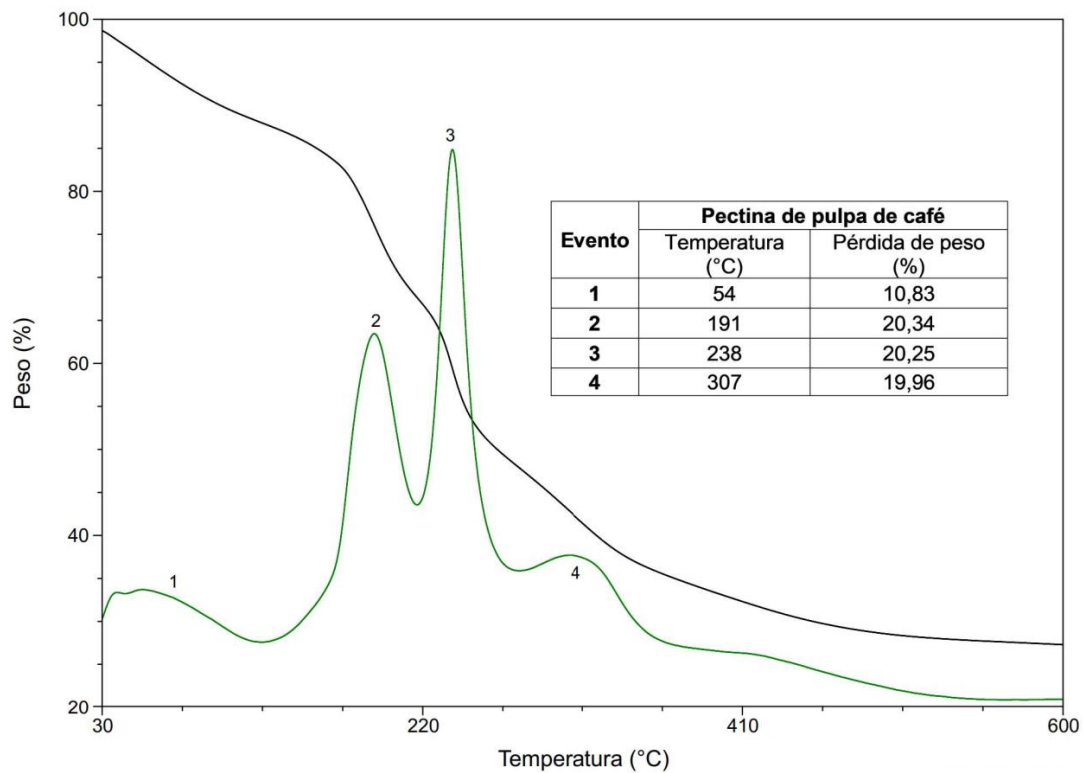


Figura 3-7: Termograma de la pectina de la pulpa de café.



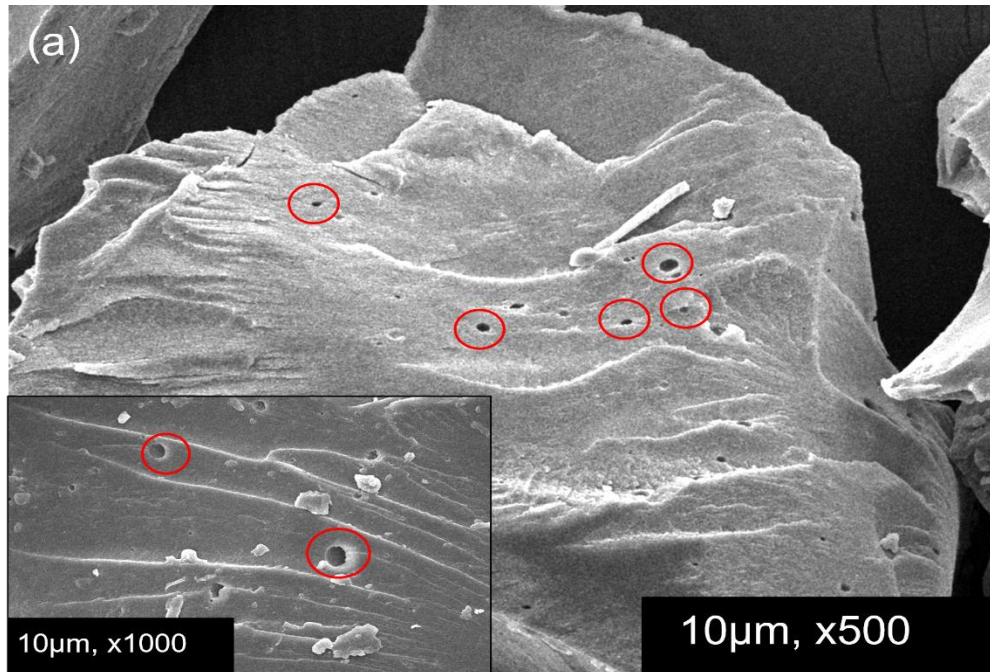
▪ **Análisis de SEM en pectinas**

Los resultados obtenidos en las imágenes SEM mostraron una estructura de la pectina de mucílago de café con una apariencia de superficie rugosa acompañada, además, de la presencia de orificios como se observa en la Figura 3-8a, dando un ligero aspecto de estructura “porosa”. Esta característica debió adquirirse durante el proceso de extracción y secado de la pectina, siendo la temperatura una de las principales variables asociadas con la posible alteración morfológica de la pectina. Según Liew et al. (2014), los cambios bruscos de temperatura durante los procesos de extracción pueden tener un efecto directo con la modificación en la superficie del polímero, por lo que se debe garantizar un control a dicha variable durante la etapa de extracción.

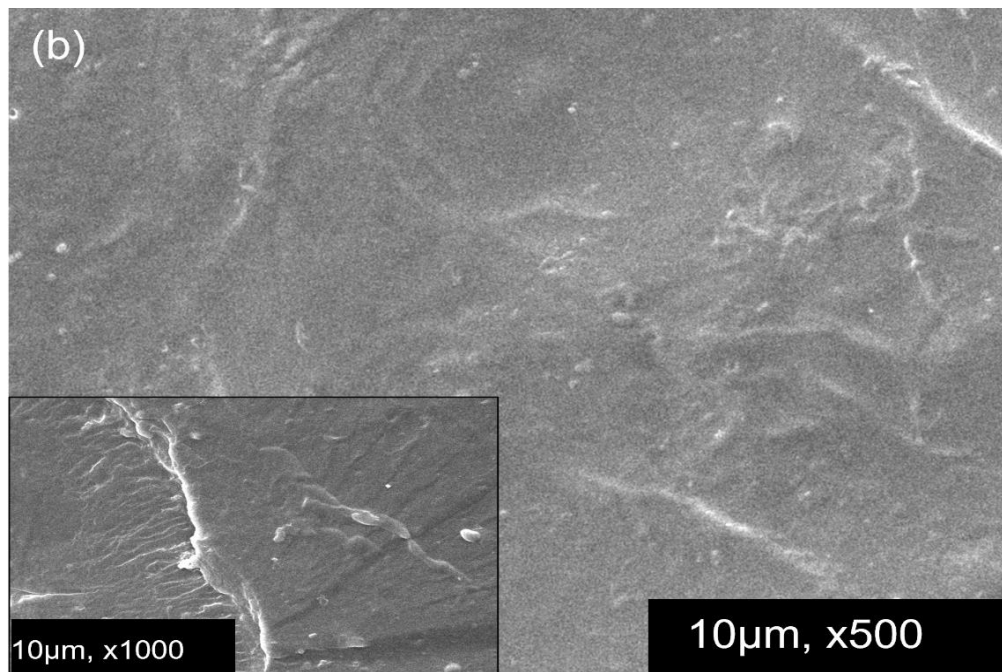
Por otro lado, los resultados de las micrografías SEM de la pectina de pulpa de café, que se observan en la Figura 3-8b, muestran una superficie ligeramente rugosa que, si se compara con los resultados de la pectina de mucílago, no se evidencia la presencia de “poros”. Los resultados obtenidos sugieren que la morfología puede estar en función de todas aquellas variables que impliquen un proceso de extracción. Este caso en particular, probablemente se deba a las condiciones de operación en la hidrólisis, llevando el proceso de extracción de las pectinas a diferentes temperaturas y tiempos de extracción. Sengar *et al.* (2020) reportaron diferentes técnicas de extracción de pectina en residuos del tomate, obteniendo diferencias significativas a nivel morfológico para cada tipo de extracción.

De tal manera que, la diferencia de los resultados morfológicos obtenidos en ambas pectinas puede estar asociados a la naturaleza de la materia prima, siendo el mucílago y pulpa de café residuos con marcadas diferencias así provengan del mismo grano de café. Estas diferencias pueden estar asociadas con la composición química, pudiendo interferir en la característica final de la pectina obtenida, sin olvidar, además, las variables operacionales del proceso de extracción que pueden alterar la caracterización tanto química como morfológica del polímero.

Figura 3-8: Micrografía SEM de las pectinas de mucílago y pulpa de café.



a) magnificación x500 y x1000.



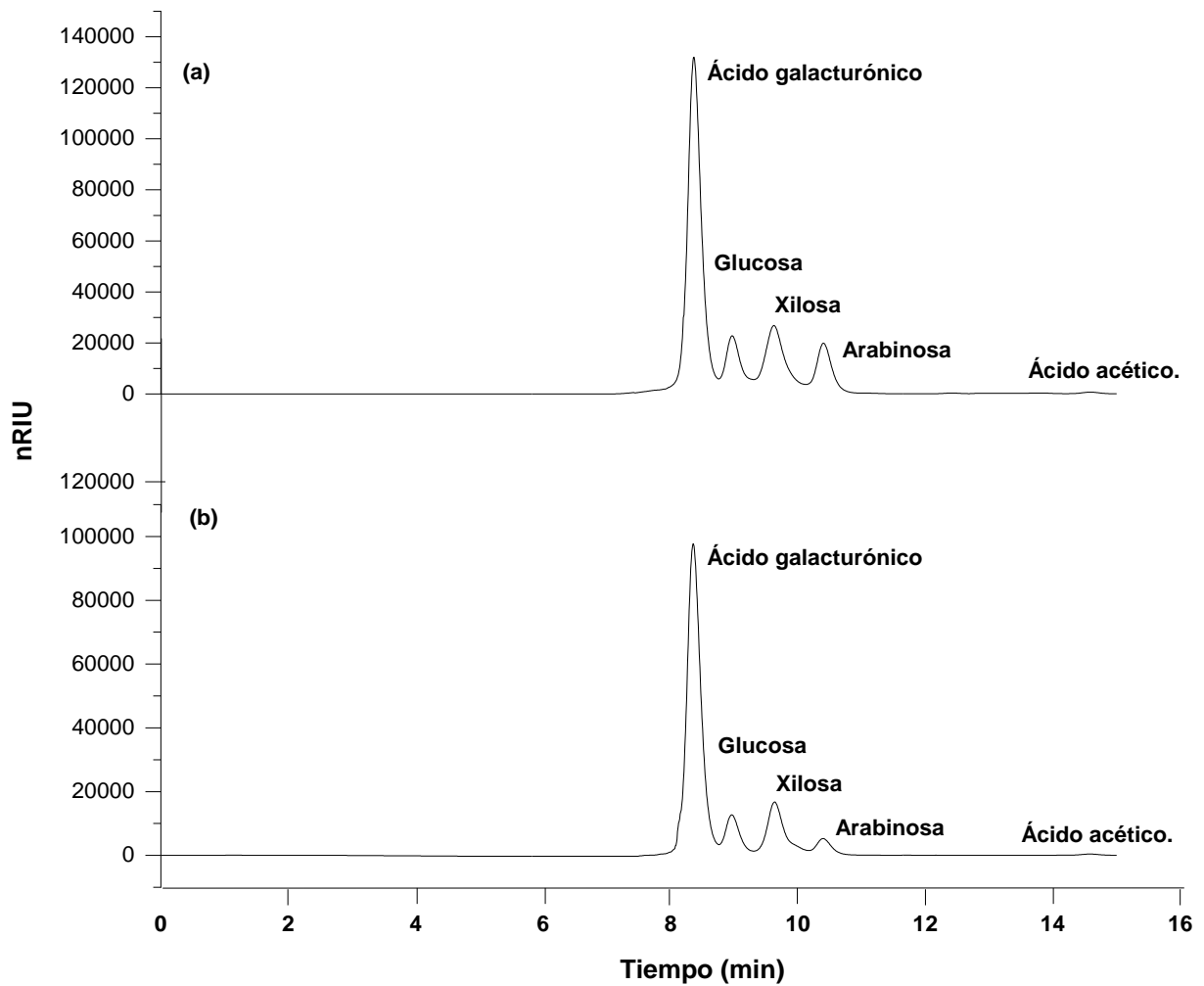
b) magnificación x500 y x1000.

▪ Análisis por Cromatografía líquida de alta definición (HPLC)

La prueba por cromatografía líquida (HPLC) permitió determinar la identificación y concentración de algunos compuestos presentes en las pectinas obtenidas de la pulpa y mucílago de café. Los resultados obtenidos (Figura 3-9) indicaron la presencia de ácido galacturónico con una concentración de 2,78 g/L y 2,09 g/L en la pectina de pulpa y mucílago de café, respectivamente. La alta concentración de ácido galacturónico en la pectina de pulpa de café estaría relacionada con la presencia de una de las estructuras predominantes de estos polímeros conocido como homogalacturonano, una de las tres regiones estructurales que cuenta con un alto dominio de unidades de ácido galacturónico unidas por enlaces α 1-4 (Valdespino-León *et al.* 2021), siendo esta la región más simple de las pectinas. Asimismo, la alta presencia en concentración del ácido galacturónico coincidió con los resultados obtenidos en la prueba de la acidez libre, permitiendo establecer a la pectina de pulpa de café como la pectina con mayor acidez entre las pectinas analizadas.

Otros de los resultados obtenidos fue la presencia de azúcares como la glucosa, la xilosa, y la arabinosa, además de la evidencia del ácido acético. Los resultados que se exponen en la Tabla 3-5 indican mayores concentraciones de estos compuestos en la pectina de pulpa de café logrando concentraciones de glucosa de 4,43 g/L, xilosa de 7,96 g/L, arabinosa de 4 g/L y del ácido acético de 0,02 g/L. La presencia de los azúcares y del ácido acético indican, posiblemente, que las pectinas obtenidas en este estudio presentaron regiones de cadena lateral en la estructura polimérica, región denominada compleja y que se conoce como Rhamnogalacturonan II (Yapo, 2011). Asimismo, según indicó Valdespino *et al.* (2021), la presencia de glucosa, además de la hemicelulosa, en el mucílago de café podría atribuirse, en términos estructurales, a su cercanía con la pulpa de café, pudiendo haber ocurrido un posible arrastre de este compuesto durante la manipulación en el desmucilaginado mecánico.

Figura 3-9: Identificación de compuestos por HPLC.



(a) pectinas de pulpa y **(b)** mucílago de café.

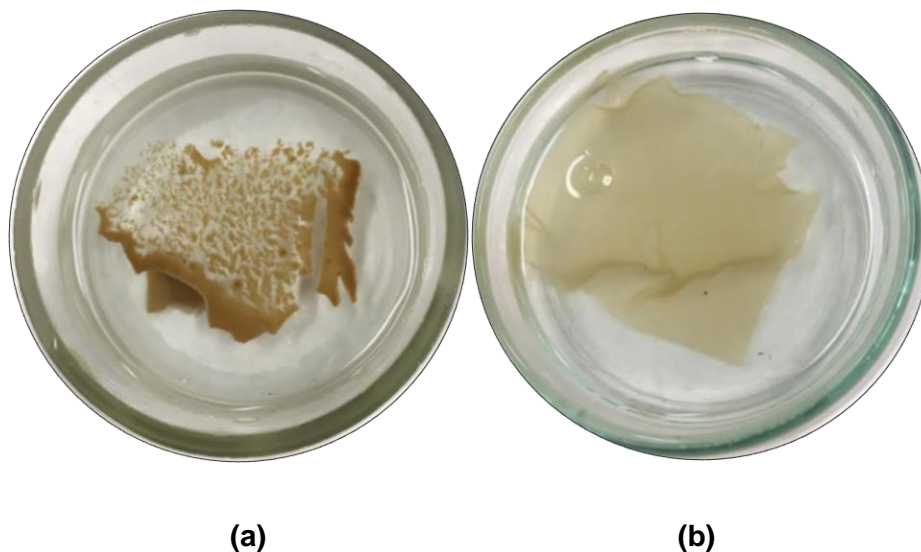
Tabla 3-5: Cuantificación por HPLC de compuestos presentes en pectinas de mucílago y pulpa de café.

Pico	Tiempo de retención (min)		Concentración (g/L)		Compuesto
	Mucílago	Pulpa	Mucílago	Pulpa	
1	8,354	8,364	2,09	2,78	Ácido galacturónico
2	8,959	8,966	2,24	4,43	Glucosa
3	9,631	9,621	4,29	7,96	Xilosa
4	10,392	10,399	1,02	4,00	Arabinosa
5	14,578	14,585	0,02	0,02	Ácido acético

3.2 Desarrollo de películas a base de pectina de mucílago y pulpa de café

Las pectinas obtenidas a partir del mucílago y pulpa de café fueron incorporadas en las formulaciones para el desarrollo de las películas. Estas se caracterizaron por presentar uniformidad, siendo flexibles, por lo tanto, no quebradizas. Uno de los parámetros analizados corresponde a la solubilidad, obteniéndose como resultado películas altamente solubles en agua, como se puede observar en la Figura 3-10. Este resultado preliminar dejó entrever una gran limitante en las aplicaciones industriales, principalmente en aquellas como los embalajes o recubrimientos de productos con alto contenido de humedad.

Figura 3-10: Ensayo preliminar de la solubilidad en agua en películas a base de pectina de pulpa (a) y mucílago de café (b).

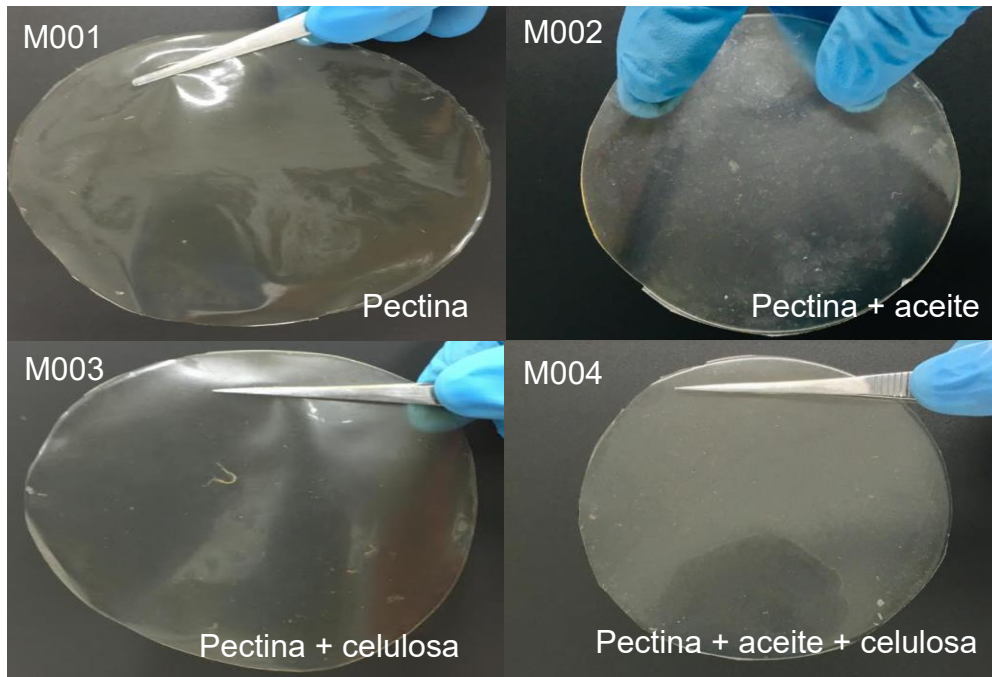
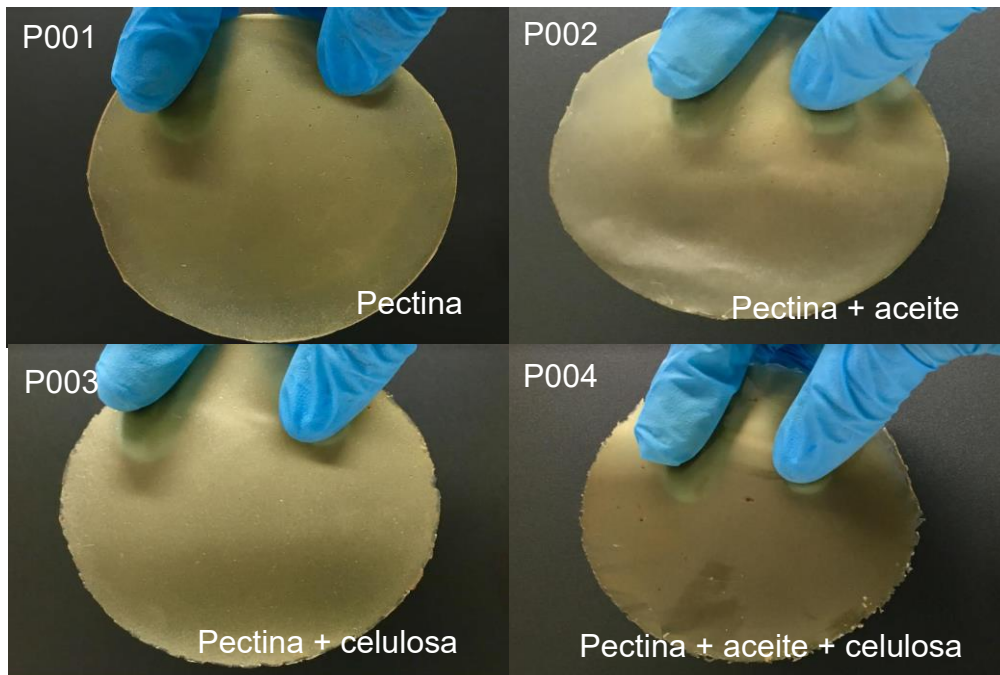


En contexto, estudios relacionados con el desarrollo de películas basadas en polímeros de fuentes renovables han revelado resultados con bajas expectativas en relación con la solubilidad y la resistencia a la tracción mecánica. En ese sentido, la búsqueda de agentes de refuerzo que contribuyan a mejorar dichas propiedades se hace necesaria. Para suplir la necesidad de mejorar estos resultados se incorporó un polímero natural como la celulosa bacteriana, además de un extracto lipofílico proveniente de la borra de café. Cabe

mencionar que los agentes de refuerzo que se incorporaron en las formulaciones se obtuvieron a partir de procesos de biorrefinería, aprovechando los residuos de la industria cafetera mediante la integración procesos de conversión de biomasa. La celulosa bacteriana, por ejemplo, se obtuvo utilizando mucílago por fermentación natural como sustrato.

Para analizar el comportamiento fisicomecánico de la inclusión de los agentes de refuerzo en las formulaciones, para la obtención de las películas, se realizaron 4 formulaciones para cada una de las pectinas (Tabla 2-4). Las películas obtenidas para la pectina de mucílago y pulpa de café se pueden observar en las Figuras 3-11 y 3-12, respectivamente.

Los resultados obtenidos indican que las pectinas de los subproductos de la industria cafetera son polímeros con alto potencial para el desarrollo de películas al obtener un producto tangible. Las películas resultantes se caracterizaron por ser maleables, por tanto, no quebradizas, de color amarillo traslúcido para las películas basadas en pectina de mucílago de café y un leve color marrón no traslucido para las películas basadas en pectinas de pulpa de café. Otro punto importante para considerar fue la buena incorporación de los agentes de refuerzo en la formulación. Sin embargo, se evidenció presencia de fibras de celulosa en aquellas películas que la incluían, tal es el caso de la película M003 (Figura 3-11). Con respecto a la inclusión del extracto de la borra de café, en la formación de las películas, se evidencio un producto con buena aceptabilidad, este resultado se dio gracias a la aplicación del Tween 20 como tensoactivo, el cual permitió obtener una emulsión homogénea evitando una sensación aceitosa en la superficie de las películas como producto final.

Figura 3-11: Películas basadas en pectina de mucílago de café.**Figura 3-12:** Películas basadas en pectina de la pulpa de café.

3.2.1 Análisis fisicomecánico y estructural de las películas

Finalizado el proceso de secado y desmolde, las películas fueron acondicionadas en una cámara climática bajo condiciones de humedad relativa al 50 % HR y una temperatura de 25 °C por un tiempo de 2 días para posteriormente realizar la caracterización de las películas en función de las propiedades fisicomecánicas y de barrera.

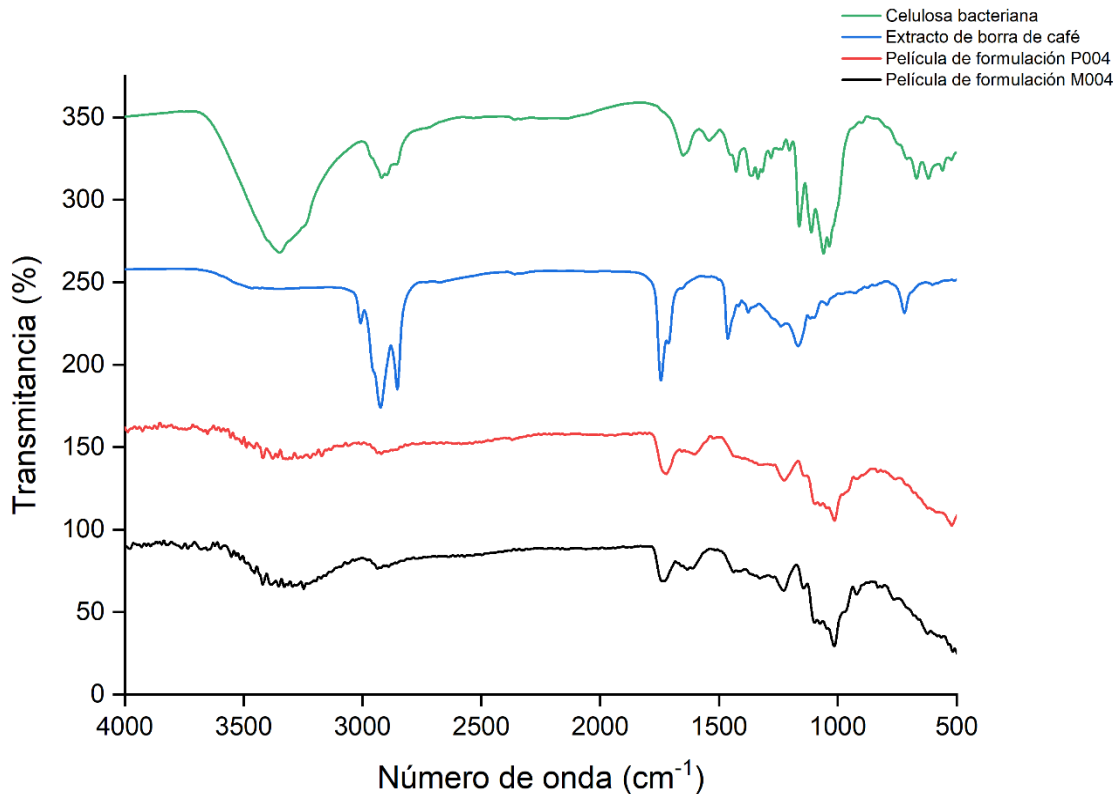
▪ Análisis de FTIR en películas

Los espectros que se muestran en la Figura 3-13 corresponden a las películas basadas en pectina de mucílago y pulpa de café al igual que los espectros de los agentes de refuerzo empleados en la formulación, como la celulosa bacteriana y el extracto de borra de café.

Las películas seleccionadas para este análisis fueron los tratamientos P004 y M004 las cuales contienen ambos agentes de refuerzo. Los resultados revelaron que las bandas características de los grupos funcionales de la celulosa bacteriana y del extracto de borra de café presentaron una moderada interacción con el resto de los componentes que hacen parte de las formulaciones, como se observa en los espectros FTIR de las películas de pectina de mucílago y pulpa de café. El espectro de la celulosa bacteriana muestra un pico amplio que va de 3700 a 3000 cm^{-1} que pertenece a los grupos hidroxilo (OH) y al enlace de hidrógeno intramolecular, además, se registró un pico en 2900 cm^{-1} que según expresan Kian *et al.* (2018), corresponde al estiramiento simétrico de los grupos CH_2 .

Otros de los componentes empleados en la formulación fue el glicerol que cumple la función de plastificante. Este compuesto pudo haber aportado grupos funcionales, principalmente el grupo O-H y que podría estar reflejado en la banda entre 3300 y 3600 cm^{-1} , generando una banda más intensa y definida en el espectro de las películas (Sánchez Aldana *et al.*, 2015).

Figura 3-13: FTIR de las películas basadas en pectina de mucílago y pulpa de café con la inclusión de celulosa y extracto de borra de café.



▪ Análisis de TGA en películas

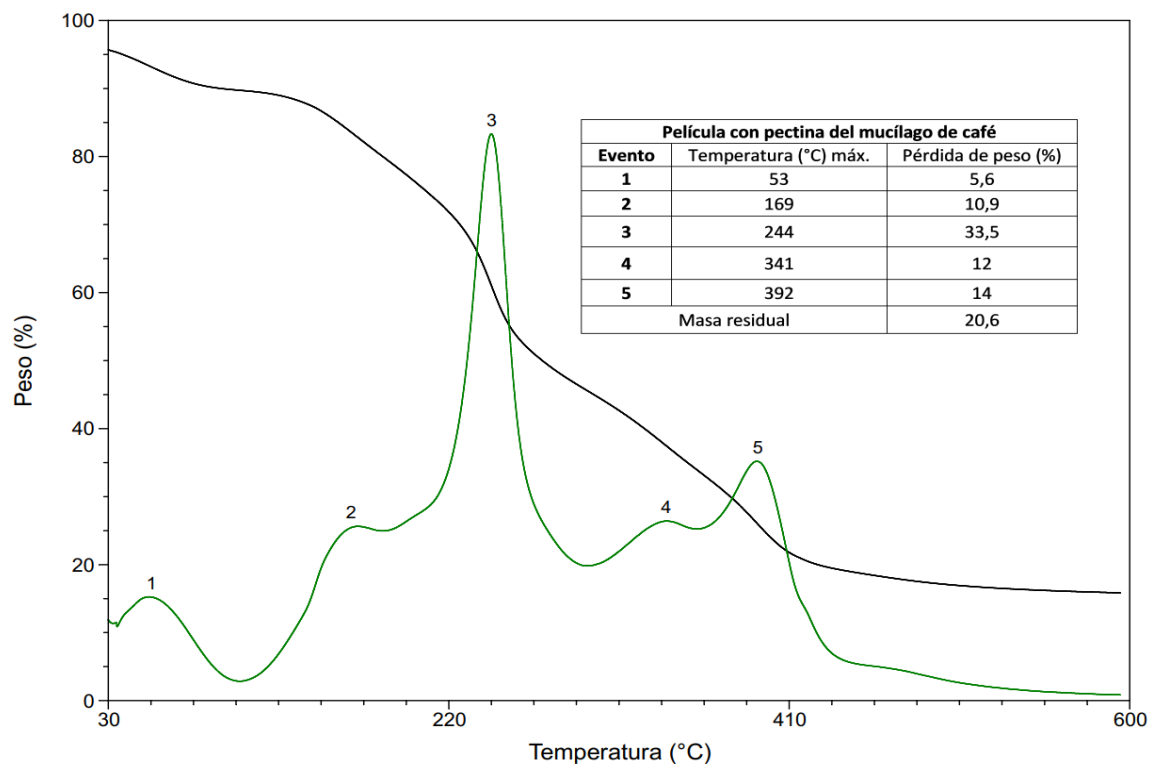
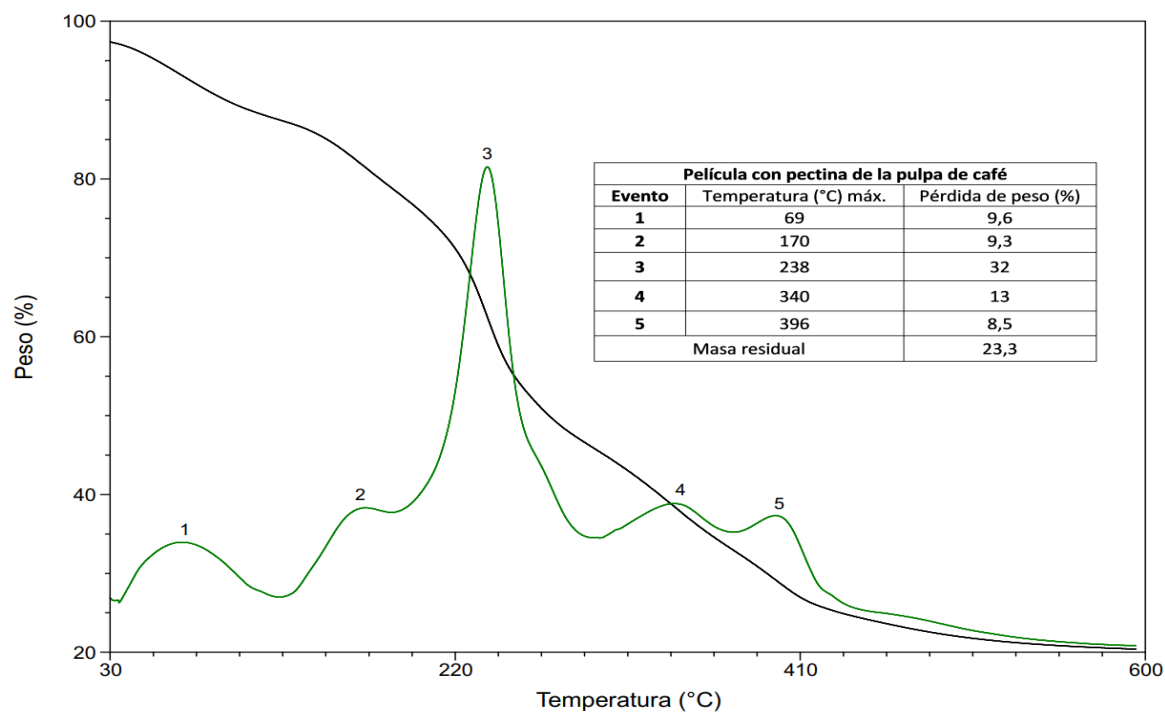
El análisis de la prueba termogravimétrica (TGA) permitió realizar seguimiento a los cambios de peso de las películas con el incremento de la temperatura. Se analizó la resistencia del material con la determinación de la variación del peso de esta en función del incremento de la temperatura y el tiempo, con un incremento de temperatura controlado a 10 °C/min.

Las Figuras 3-14 y 3-15 muestran las curvas en porcentaje (%) de la pérdida de peso y su derivada (%/°C) en función del incremento de la temperatura en las muestras de películas basadas en pectina de mucílago (M004) y pulpa de café (P004), respectivamente. Los resultados revelan 5 eventos de pérdida de peso. El primer evento se registra por debajo de los 100 °C con un máximo de temperatura de 53 y 69 °C para el tratamiento M004 y P004, respectivamente. La pérdida de peso en este primer evento fue de 5,6 % (M004) y

9,6 % (P004), que se atribuye posiblemente a la pérdida de humedad debido principalmente a la evaporación de las moléculas de agua físicamente absorbidas y unidas por enlaces de hidrógeno (Ye *et al.*, 2019). Sin embargo, en este primer evento puede estar involucrado, además, la evaporación del aceite incorporado en las películas debido a la alta volatilidad de los compuestos presentes en el extracto lipofílico (Sánchez Aldana *et al.*, 2015). El segundo evento, la muestra M004 registró una pérdida de peso de 10,9 % en un rango de temperatura de 104.2 – 190.1 °C y un máximo de 169 °C. La muestra P004, por su parte, registró una pérdida de peso de 9,3 % en el rango de temperatura de 122.3 – 185.9 °C con un máximo de 170 °C. Las pérdidas de peso en este evento pueden estar relacionadas con la pérdida de humedad de las muestras, además de otros compuestos como el glicerol.

El tercer evento registró pérdidas de 33,5 % (244 °C) y 32 % (238 °C) para las muestras M004 y P004, respectivamente y se atribuye a la degradación de pectinas de cadena corta y cadena larga de acuerdo con Sánchez Aldana *et al.* (2015). El cuarto evento la muestra M004 registró una pérdida de peso de 12 % en el rango de temperatura de 299.1 – 363.3 °C (341 °C) y la muestra P004 con pérdida de peso de 13 % en un rango de 295.5 – 372.9 °C (340 °C). La pérdida de peso en este evento puede estar relacionadas con la degradación de la celulosa con la generación de C, CO, CO₂, principalmente. Se comprueba la pérdida de peso relacionada con la celulosa con los rangos reportados por Ye *et al.* (2019), que registraron transiciones térmicas de celulosa entre 250 – 400 °C, al igual que Kian *et al.* (2018) con reportes de rangos de temperatura entre 200 – 380 °C.

El quinto evento registró pérdidas en peso de 14 % (392 °C) para M004 y de 8,5 % (396 °C) para P004, relacionadas probablemente a la degradación de las cadenas ramificadas de polímeros, información que se obtiene de un estudio realizado por Sánchez Aldana *et al.* (2015) quienes registraron una pérdida de peso de 18,96 % a una temperatura de 329.45 °C, temperatura cercana a las registradas en este estudio. Finalmente, se observa un posible evento poco perceptible para M004 y P004 y que podría estar atribuidas a la degradación carbón remanente de las muestras. Los pesos residuales de las muestras de película fueron de 20,06 % y 23,3 % para M004 y P004, respectivamente.

Figura 3-14: Termograma de la película M004.**Figura 3-15:** Termograma de la película P004.

▪ **Análisis de SEM en películas con agentes de refuerzo**

Los resultados obtenidos en el análisis morfológico de las películas con celulosa y extracto de borra de café, correspondientes a los tratamientos M004 y P004, se muestran en las Figuras 3-16a y b, respectivamente.

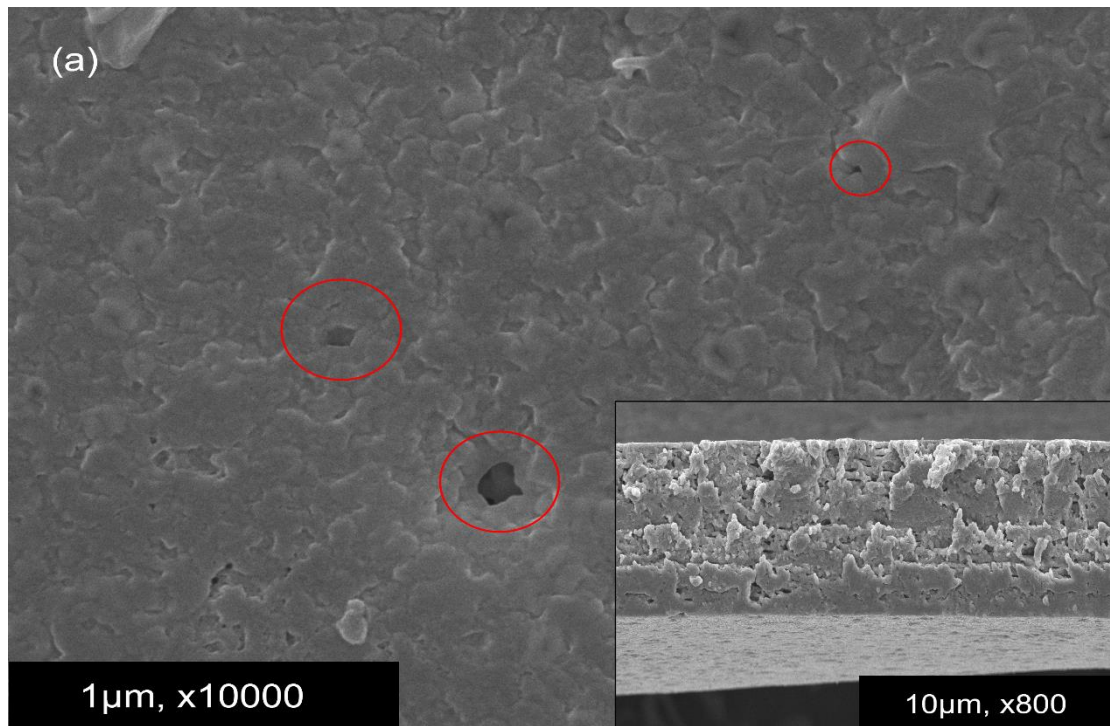
La morfología de la superficie de la película M004 (Figura 3-16a) reveló un resultado de superficie heterogénea, no lisa y con evidencia de orificios. Por otra parte, los resultados morfológicos de la película P004 (Figura 3-16b), reveló resultados de superficie con características similares a la película M004, siendo P004 más rugosa y sin la presencia de orificios. Otro detalle revelado en los resultados fue la evidencia o presencia de partículas sobre las superficies, distribuidas de forma heterogénea a lo largo de la matriz polimérica. La presencia de dichas partículas sobre la superficie se relacionan a un efecto que puede estar asociado a sedimentos de partículas presentes en la emulsión que se asentaron durante el proceso de secado de las películas (Mendes *et al.*, 2019).

La toma de la sección transversal de la película M004, que se muestra en la parte inferior derecha en la Figura 3-16a, muestra una morfología no homogénea con aspecto craquelado, además de la presencia de orificios. La sección trasversal de la película P004, parte inferior derecha de la Figura 3-16b, se mostró compacta, mucha más que la película M004, a lo largo de su estructura. Como particularidad, los orificios o “poros” registrados en los resultados morfológicos no atravesaron la muestra de la película, por ende, podrían haberse originado por el aire, principalmente por la ventilación del horno de convección forzada durante el proceso de secado. Es así como la presencia de los orificios, la poca homogeneidad y la presencia de partículas sobre la superficie de la película pueden estar vinculados a cada una de las etapas del proceso de elaboración. Por ejemplo, Bátori *et al.* (2017) obtuvieron resultados morfológicos con variabilidad en la estructura de la superficie de la película ligada principalmente al tipo de secado.

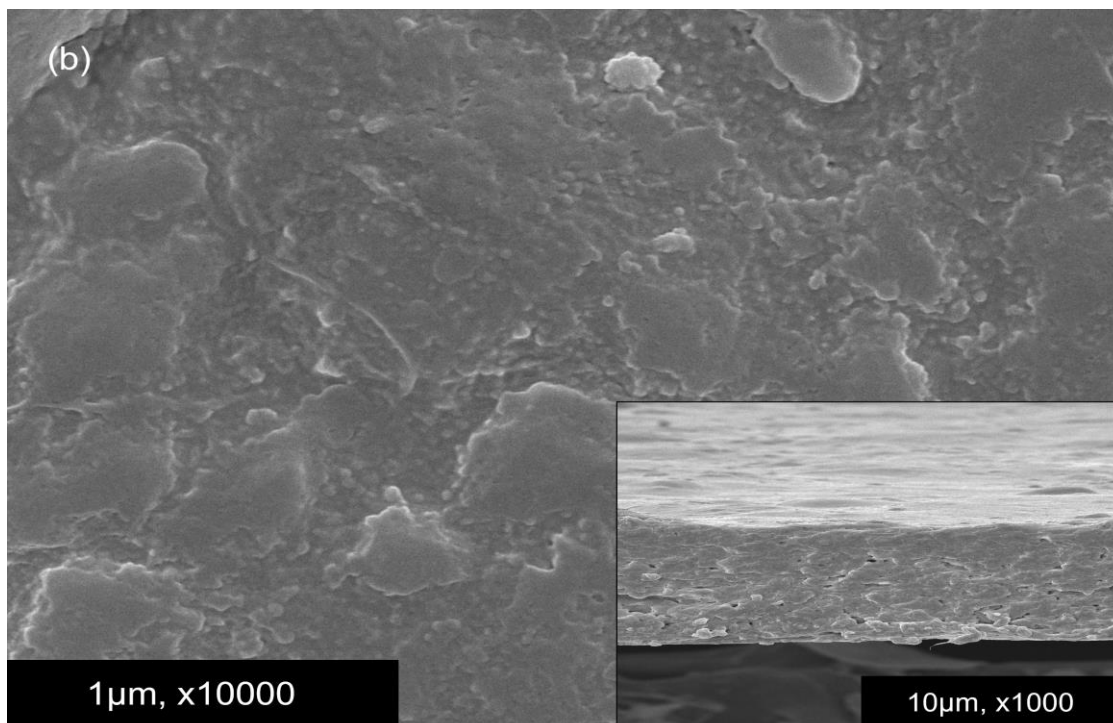
Asimismo, la presencia de los orificios en la película M004, quizá, esté también relacionada con la cristalización del aceite, proveniente del extracto de la borra de café, quedando atrapados dichos cristales a lo largo de la matriz de la película creando una discontinuidad, dando origen a cavidades como se observa en las zonas discontinuas de la sección transversal de las muestras. Resultados similares se reportaron en un estudio realizado por Lei *et al.* (2019), quienes desarrollaron películas incluyendo polifenoles de té,

consiguiendo resultados equivalentes con irregularidades en la morfología de las películas obtenidas, con la presencia de orificios sobre la matriz polimérica.

Figura 3-16: Micrografía SEM de la película M004 (a) y P004 (b) con inclusión de celulosa y extracto de borra de café.



M004: pectina de mucílago de café, celulosa y extracto de borra de café.



P004: pectina de pulpa de café, celulosa y extracto de borra de café.

Finalmente, el acoplamiento o buena interacción de los componentes se evidenció en las películas basadas en pectina de la pulpa de café, que pese a su baja homogeneidad no se generó cavidades en la matriz polimérica. La característica de aspecto rugoso en las películas se relaciona con la homogenización de la solución formadora de película o con el proceso de moldeo y desmoldeo, dando efectos superficiales, pero no de la estructura intrínseca de las películas.

▪ **Análisis de las propiedades mecánicas de las películas**

Las propiedades mecánicas permiten obtener información sobre la calidad del material, permitiendo dar claridad sobre la durabilidad y estabilidad de las películas durante la manipulación en cualquier aplicación industrial, principalmente en la industria de los alimentos. Los resultados de las propiedades mecánicas se dan en función de la resistencia a la tracción (TS) y la elongación o alargamiento a la rotura (EB). Los resultados obtenidos se presentan en las Figuras 3-17 y 3-18 para las formulaciones de películas basadas en pectina de mucílago y pulpa de café, respectivamente.

La inclusión de agentes de refuerzo en las formulaciones expuso resultados favorables en respuesta a las propiedades mecánicas en las películas. Por ejemplo, el tratamiento sin inclusión de agentes de refuerzo (M001) reveló una mejora de la TS pasando de tener 1,58 MPa a 2,41 y 2,17 MPa (Figura 3-17) en las formulaciones con inclusión de celulosa (M003) y celulosa / extracto de borra (M004), respectivamente, de igual forma el alargamiento a la rotura incrementó a 6,77 % en la formulación M003 y 7,81 % en la formulación M004.

Las formulaciones de películas con pectina de pulpa de café presentaron mejores resultados a las propiedades mecánicas, siendo la formulación con celulosa / extracto de borra (P004) quien obtuvo una mayor TS con 3,41 MPa y EB de 24,50 %, resultados que indican que los agentes de refuerzo son de gran ayuda para el desarrollo de películas biodegradables a base de pectina, demostrando mejoras significativas en el producto final frente a las propiedades mecánicas. Ye *et al.* (2019) realizaron películas incorporando cinamaldehído y polifenoles del té, contribuyendo a mejorar las propiedades mecánicas de las películas obteniendo resultados de 5,18 MPa y un alargamiento a la rotura de 7,4 %. Valores cercanos a los resultados obtenidos en este estudio fueron reportados por

Valdespino León *et al.* (2021) que lograron obtener un valor de TS de $2,83 \pm 0,32$ MPa en películas basadas en pectina de mucílago de café.

No obstante, la variabilidad en los resultados de las películas poliméricas, principalmente en las películas basadas en pectina de mucílago de café, podría asociarse a la presencia de los orificios registrados en el análisis morfológico de la película (Figura 3-16a). La presencia de partículas puede inducir a una baja resistencia a la tracción. Además, la homogeneidad de la emulsión, la formación de nuevos enlaces químicos entre los agentes de refuerzo que pueden ocurrir durante el proceso de elaboración de las películas, así como garantizar uniformidad en el espesor de estas, son otras de las variables de estudio que se deben de evaluar. En cuanto al espesor de las películas, este se asocia con los cálculos de las propiedades mecánicas, y del que se obtuvieron resultados que indican una fluctuación entre 0,07 y 0,10 mm, como se observa en las Tabla 3-6 y 3-7. La variabilidad en los resultados obtenidos con el espesor podría estar relaciona con una mala calibración de las bandejas del horno y las cajas Petri en la etapa de secado, consiguiendo dar origen a un desequilibrio en las muestras, generando una baja uniformidad de las películas resultantes.

Los materiales poliméricos, desarrollados con pectinas, tienen a ser poco resistentes a fuerzas de tracción y por el que se requiere realizar mezclas de polímeros que mejoren las propiedades mecánicas y de barrera, importantes para la aplicabilidad de las películas en la industria de los alimentos como bioempaques. Muestra de ello se evidenció en las formulaciones propuestas en esta investigación y en las que se obtuvieron resultados favorecedores en las formulaciones que incluía celulosa, siendo este último un polímero de interés por su biodegradabilidad, sin ningún grado de toxicidad, con estabilidad térmica y química y de alta resistencia mecánica (Ye *et al.*, 2018).

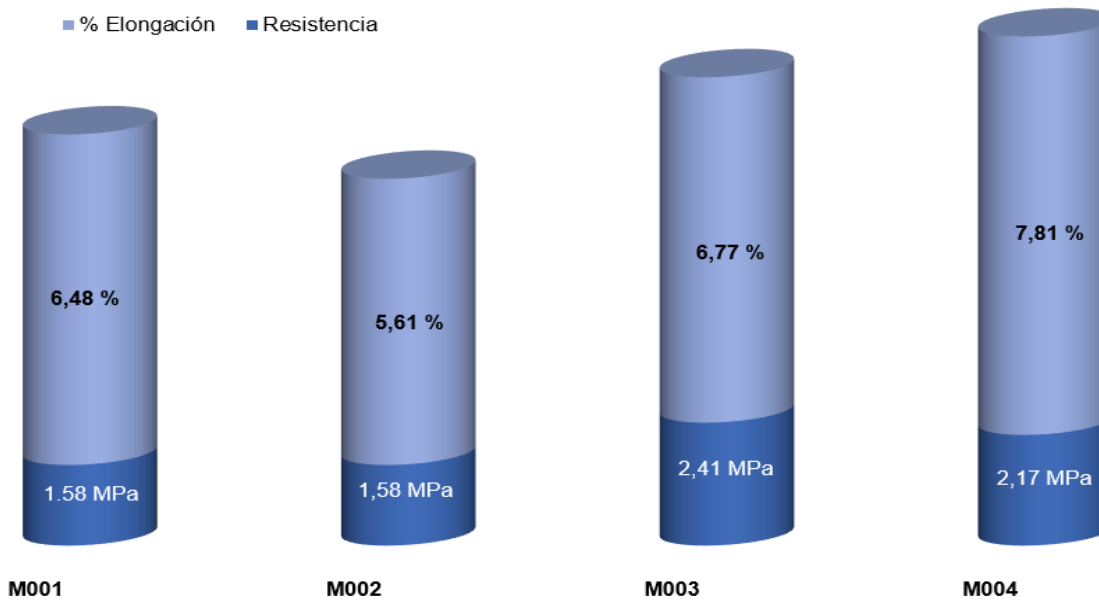
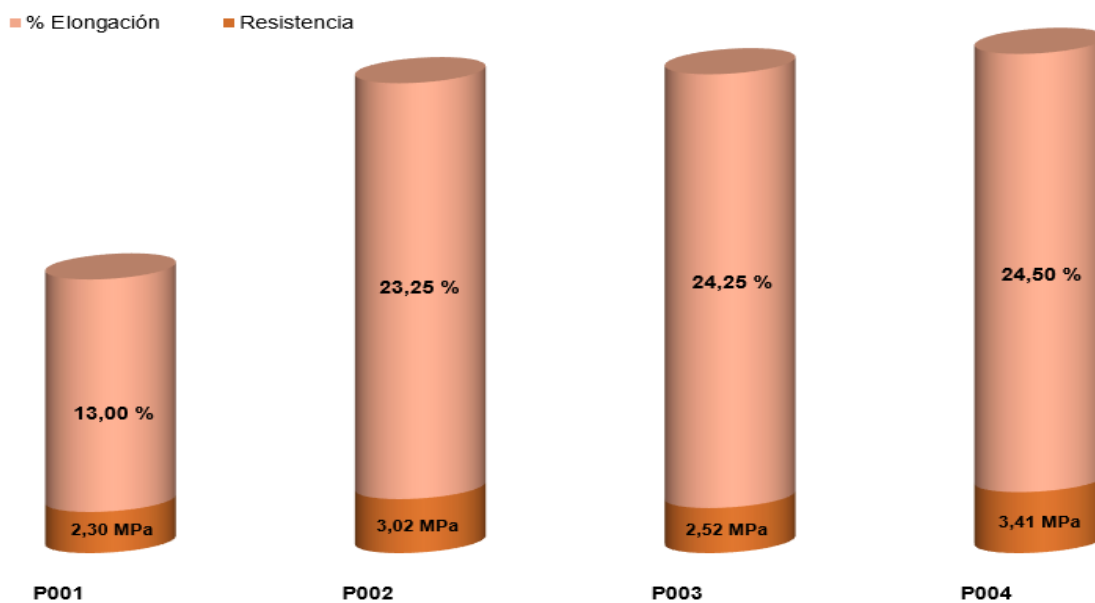
Figura 3-17: Propiedades mecánicas de las películas de pectina de mucílago de café.**Figura 3-18:** Propiedades mecánicas de las películas de pectina de pulpa de café.

Tabla 3-6: Propiedades mecánicas de las películas basadas en pectina de mucílago de café.

Formulación	Resistencia a la tracción (MPa)	Alargamiento a la rotura (%)	Espesor de la película (mm)
M001	1,58 ± 0,39	6,48 ± 0,43	0,07 ± 0,01
M002	1,58 ± 0,26	5,61 ± 1,29	0,08 ± 0,01
M003	2,41 ± 0,16	6,77 ± 0,44	0,07 ± 0,01
M004	2,17 ± 0,39	7,81 ± 2,48	0,09 ± 0,01

Tabla 3-7: Propiedades mecánicas de las películas basadas en pectina de pulpa de café.

Formulación	Resistencia a la tracción (MPa)	Alargamiento a la rotura (%)	Espesor de la película (mm)
P001	2,30 ± 0,61	13,00 ± 7,87	0,10 ± 0,03
P002	3,02 ± 0,45	23,25 ± 9,64	0,08 ± 0,00
P003	2,52 ± 0,87	24,25 ± 6,45	0,08 ± 0,00
P004	3,41 ± 0,78	24,50 ± 3,87	0,07 ± 0,00

▪ Solubilidad al agua

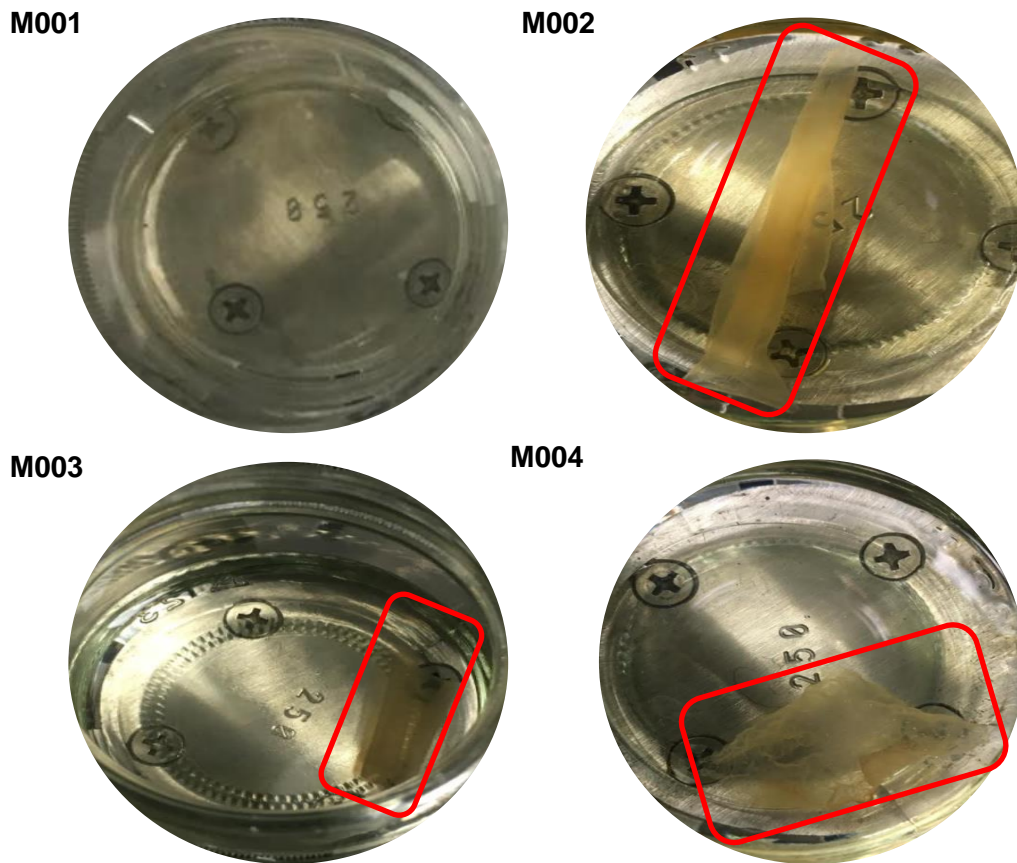
La prueba de solubilidad al agua de las películas es, junto a las propiedades mecánicas, una de las propiedades importantes que brinda información de la estabilidad del material en presencia de humedad. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 3-8.

Los registros fotográficos que se encuentran en las Figuras 3-19 y 3-20 revelan registros de estabilidad de las muestras en la prueba de solubilidad en agua con tiempos de observación de 19 y 17 horas para las muestras de película de pectina de mucílago y pulpa de café, respectivamente. Durante el seguimiento de observación, la estabilidad de las muestras en agua fue buena a excepción de la muestra M001 (Figura 3-19), quien tuvo una disolución cerca del 100 % frente al resto de las muestras, las cuales se mantenían estables, probablemente, por la adición de los agentes de refuerzo en la formulación.

Con respecto a solubilidad en las muestras de película con pectina de pulpa de café, a las 17 horas (Figura 3-20) se mostraron estables con una leve decoloración. A las 24 horas, las muestras se mantuvieron estables en todas las formulaciones (P001, P002, P003 y P004) (Figura 3-21) frente a las muestras de película de mucílago de café, en el que las

formulaciones M002, M003 y M004 permanecieron en el agua con evidencia de degradación respecto a la condición inicial.

Figura 3-19: Solubilidad en agua en muestras de película basadas en pectina de mucílago de café.



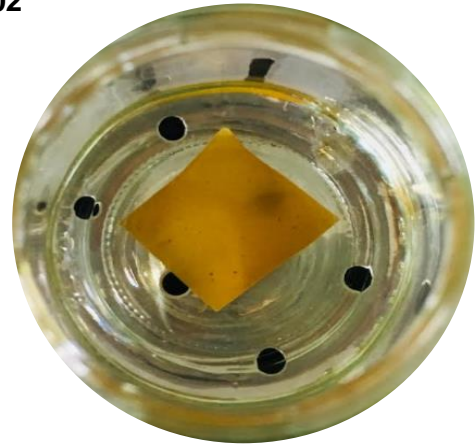
Tiempo de observación: 19 horas.

Figura 3-20: Solubilidad en agua en muestras de película basadas en pectina de pulpa de café.

P001



P002



P003

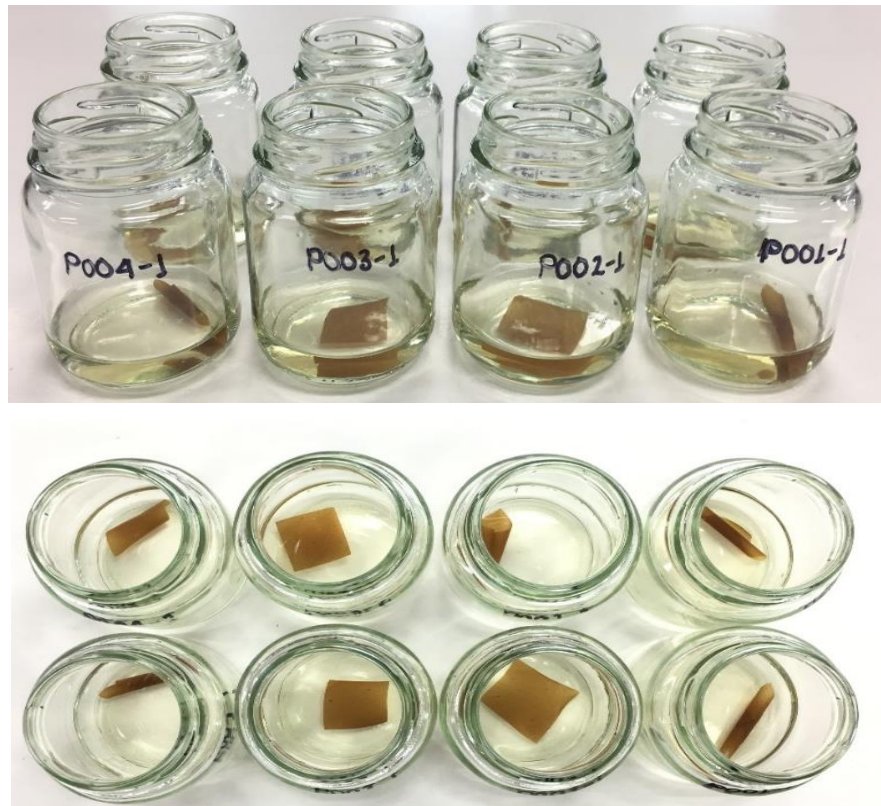


P004



Tiempo de observación: 17 horas.

Figura 3-21: Prueba de solubilidad en muestras de película basadas en pectina de pulpa de café finalizada las 24 horas.



Los resultados obtenidos en esta prueba (Tabla 3-8) muestran registros con altos porcentajes de solubilidad en agua en las formulaciones de las películas basadas en pectina de mucílago frente a las películas basadas en pectina de pulpa de café. La formulación P003, quien contiene celulosa, registró una solubilidad de $39,52 \pm 7,80$ %. Asimismo, la formulación M004 (celulosa y extracto de borra de café) registró menor solubilidad en agua con un valor de $58,52 \pm 1,95$ %, resultado cercano al reportado por Valdespino León *et al.* (2021) con un $65,16 \pm 6,06$ % de solubilidad en agua en películas basadas en pectina de mucílago de café de origen mexicano.

La adición de agentes de refuerzo han demostrado ser una alternativa viable para mejorar las propiedades mecánicas y de barrera en las películas. Sood & Saini. (2022), por ejemplo, realizaron un estudio sobre el efecto de la incorporación de compuestos como la

caseína, albumina de huevo y pectina de la cáscara de pomelo rojo obteniendo un resultado favorecedor en función de la solubilidad en agua llegando a obtener un $33,33 \pm 0,26$ % durante una hora, con una relación de pectina, caseína y albumina de huevo de 50:25:25 (p/v), respectivamente.

La adición de extracto de borra de café en las formulaciones M002 y P002 revelaron una mejora frente a los tratamientos sin presencia de un agente de refuerzo (M001 y P001), con tendencia a mejorar con la adición de celulosa. Roy & Rhim (2021) evaluaron el efecto del refuerzo de extracto de semilla de pomelo, que se caracteriza por poseer compuestos activos como los flavonoides (naringenina), los limonoides (limonina), los polifenoles, el tocoferol, el ácido ascórbico y otros oligoelementos; de igual forma lo hicieron Adilah *et al.* (2018) adicionando extractos de la cáscara de mango dando buenos resultados con la disminución en la solubilidad de las películas en ambos casos. Sin embargo, la solubilidad del material polimérico puede verse afectada por factores como la estructura morfológica de la película, pudiendo ser el caso para las muestras de películas de pectina del mucílago de café, donde los resultados revelados en la prueba SEM indicaron formación heterogénea en la matriz polimérica, dando origen a una mayor tendencia de la solubilidad en agua frente a las muestras de película de pectina de pulpa de café.

Tabla 3-8: Solubilidad en agua en películas basadas en pectina de mucílago y pulpa de café.

Formulación	Solubilidad en agua (%)	Formulación	Solubilidad en agua (%)
M001	$91,68 \pm 2,83$	P001	$74,15 \pm 5,32$
M002	$79,07 \pm 7,89$	P002	$55,42 \pm 5,40$
M003	$63,52 \pm 4,25$	P003	$39,52 \pm 7,80$
M004	$58,52 \pm 1,95$	P004	$40,46 \pm 5,26$

3.2.2 Biodegradabilidad de las películas

Con el avance de la tecnología se ha permitido desarrollar nuevas creaciones a través de procesos sostenibles. La industria del plástico es un ejemplo en la transformación de la búsqueda de alternativas para contrarrestar la contaminación causada por materiales

plásticos de un solo uso. Los plásticos biodegradables o los comúnmente llamados bioplásticos presentan una ventaja que se debe a la degradación del material con un estimado de tiempo menor a los 6 meses (Quader *et al.*, 2015), mucho menor comparado con el tiempo estimado para los plásticos convencionales con tiempos de aproximadamente 500 años o más, dependiendo del tipo de plástico (Greenpeace, 2019).

En la literatura se han reportado estudios de biodegradabilidad de películas teniendo en cuenta los efectos de la temperatura, la degradación anaeróbica y en suelo, entre otros. El estudio de biodegradabilidad de las películas se desarrolló a través de metodologías de biodegradación no controlada bajo suelo (Figura 3-22) y a través de exposición de las muestras en un ambiente exterior bajo techo. El monitoreo de biodegradación en el tiempo se realizó con el seguimiento de pérdida de peso y cambio en su perímetro con respecto al día inicial. Los resultados de la biodegradabilidad en suelo para las películas de mucílago y pulpa de café se presentan en las Figuras 3-23 y 3-24, respectivamente.

Figura 3-22: Zona de estudio biodegradabilidad en suelo bajo condiciones no controladas.

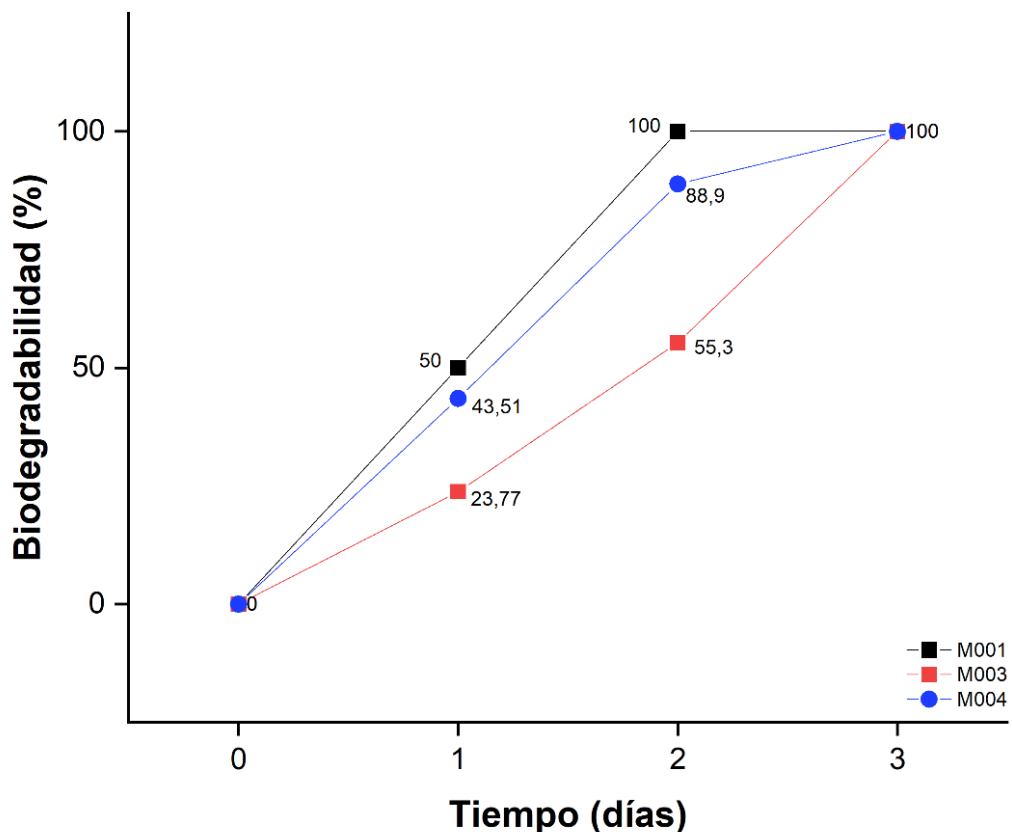


Ubicación: exteriores del Laboratorio de Procesos Agrícolas. Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín.

Los resultados del estudio de biodegradación de las muestras de película con pectina de mucílago de café exhibieron un comportamiento diferencial en respuesta a la pérdida de

peso en cada formulación. Transcurrido las 24 horas, las pérdidas de peso para las formulaciones M001, M003 y M004 fueron del 50 %, 23,77 % y 43,51 %, respectivamente. La diferencia de pérdida del peso se vincula a la composición en cada formulación, siendo las formulaciones M003 y M004 reforzadas con celulosa y extracto de borra de café (aceite) que a su vez brindaron mayor estabilidad. Pasadas las 48 horas, las pérdidas en peso frente al día cero (0) fueron del 100 %, 55,30 % y 88,90 % en M001, M003 y M004, consecutivamente. La formulación M001 tuvo una rápida biodegradación debido a la no inclusión de agentes de refuerzo contrario a la formulación M003 que, con celulosa, fue la que registró menor porcentaje de pérdida durante los 3 días de estudio, día en que hubo una biodegradación del 100 %, como se evidencia en la Figura 3-23.

Figura 3-23: Porcentaje de biodegradabilidad bajo suelo en películas de pectina de mucílago de café.



Las muestras de película de pectina de pulpa de café (Figura 3-24) mostraron tener mayor estabilidad frente a las películas de pectina de mucílago. Transcurrido las 24 horas, la

muestra P001 registró una pérdida de peso, en promedio, de 0,0623 g a 0,0554 g, que representa en porcentaje de biodegradabilidad un 11 % del material. De igual forma se registró para ese tiempo un 45,03 % y 35,66 % de biodegradabilidad en las muestras P003 y P004, respectivamente. La muestra P001 alcanzó su biodegradabilidad total al día 5.

Las muestras P003 y P004 presentaron una biodegradabilidad lenta respecto a la muestra P001, quienes mostraron una estabilidad entre los días 10 y 14, como se observa en la Figura 3-24. El porcentaje de biodegradabilidad para la muestra P003 durante los días mencionados fue de 59,93 % y 62,78 %, indicando que hubo un incremento de 2,85 % de la biodegradabilidad de la muestra durante los 4 días. De igual manera, la muestra P004 presentó un incremento en su biodegradabilidad de 0,79 %, pasando de un porcentaje de biodegradabilidad del 61,62 % al 62,41 % durante los mismos 4 días, mucho más baja que la formulación P003. La ralentización en pérdida de peso de la muestra puede estar asociado a los principios activos de los agentes de refuerzo brindando una posible barrera antimicrobiana por parte del extracto de la borra de café (aceite).

Por otro lado, es importante mencionar que se observó una disminución en el porcentaje de la biodegradabilidad en las muestras P003 y P004 entre los días 2 y 4. Sin embargo, el aumento del peso de las películas, entre los días 5 al 8, puede estar atribuido al poco cuidado en la remoción de residuos de tierra, dificultad que se tuvo debido al cambio morfológico que las muestras adquirieron con el pasar de los días, como se puede observar en la Figura 3-25.

Figura 3-24: Porcentaje de biodegradabilidad bajo suelo en películas de pectina de pulpa de café.

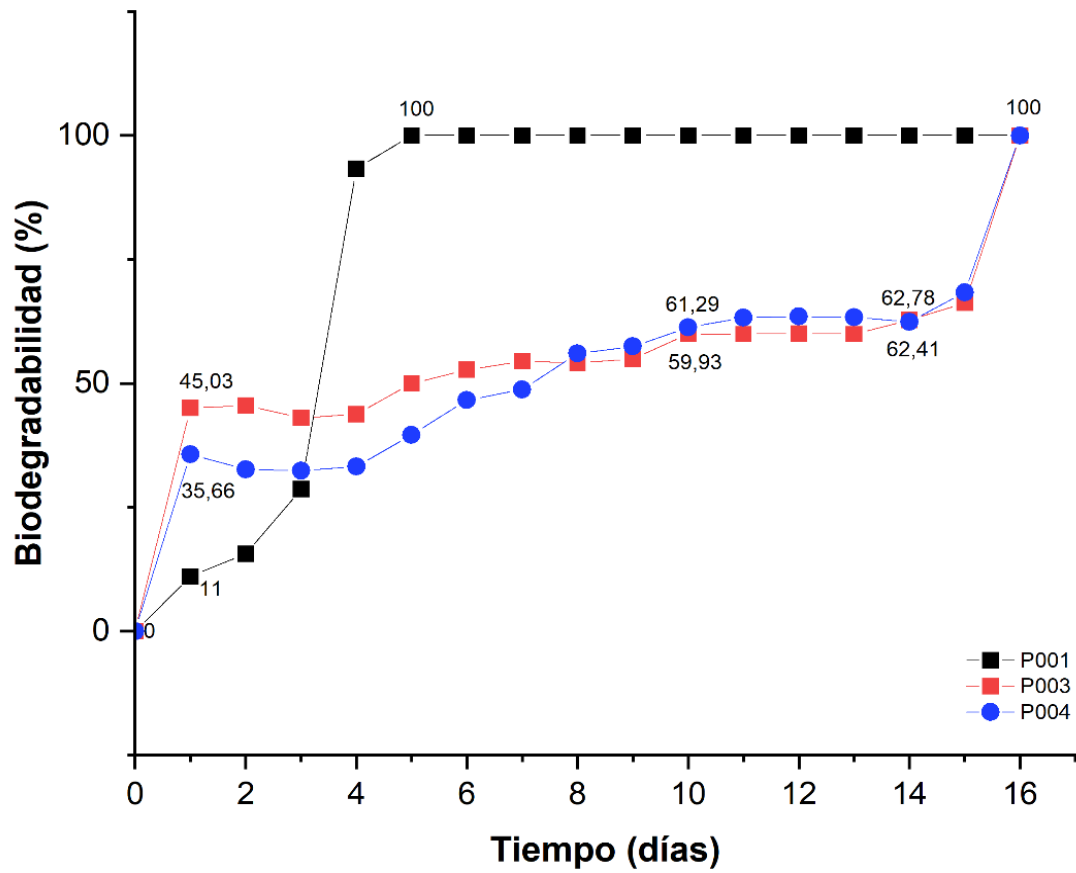
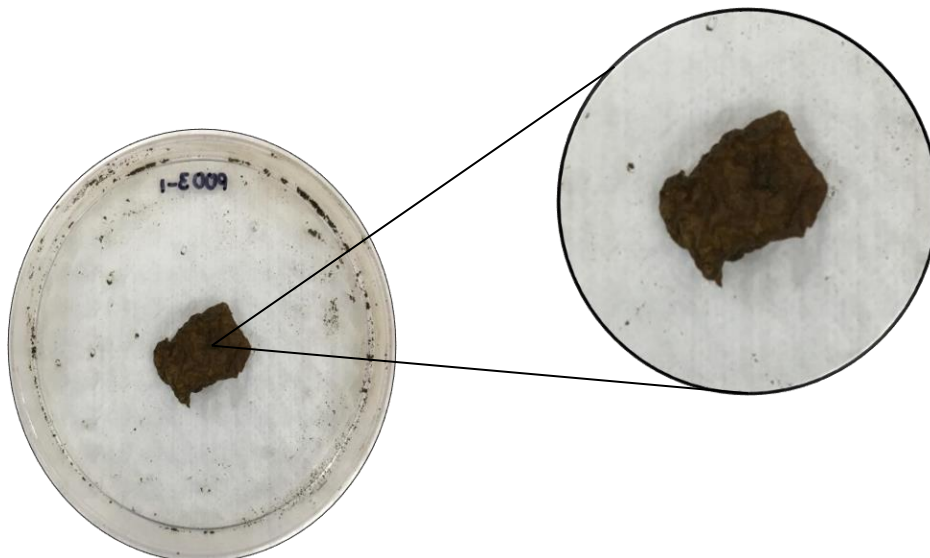


Figura 3-25: Cambios morfológicos en las muestras de película al tercer (3) día.



Para el estudio del análisis de la biodegradabilidad de las películas no se tuvo en cuenta el monitoreo sobre las condiciones ambientales como la temperatura, la humedad y las precipitaciones. Sin embargo, estas variables climáticas pudieron presentar incidencia de forma directa en el cambio estructural de la matriz polimérica. Sumado a lo anterior, las características del suelo como el pH, la humedad, la carga microbiológica, el porcentaje de materia orgánica, el carbono orgánico, entre otros (Tabla 3-9) también pudieron estar involucrados en la biodegradabilidad de las películas en función del tiempo.

Tabla 3-9: Características del suelo.

pH (unidades)	8,34 ± 0,01
Humedad (%)	22,11 ± 0,59
Materia orgánica (%)	11,07 ± 1,66
Carbono orgánico (%)	19,09 ± 2,87

Ahora, otra posible causa de la rápida biodegradabilidad de las películas de pectina de mucílago de café podría estar atribuida a la composición, las propiedades fisicoquímicas y la morfología de la pectina en las películas obtenidas. La alta solubilidad en las películas de pectina del mucílago de café es quizá la característica de mayor relevancia para asociar la rápida biodegradación de las películas bajo el suelo, donde la humedad representa una relación directa con la pérdida de peso de las películas.

Durante el seguimiento de la biodegradación, las muestras presentaron cambios en su estructura física dando origen a la pérdida del perímetro respecto al inicial. Los resultados con relación al análisis del cambio perimetral de las muestras se exponen en las Figuras 3-26 y 3-27 para las películas de mucílago y pulpa de café, respectivamente.

Para el registro de las dimensiones geométricas de las películas, se llevó a cabo cada 24 horas con un tiempo de registro de 2 días para las películas basadas con pectina del mucílago de café y hasta 5 días en las películas con pectina de pulpa de café. Después de los días mencionados, la toma de registro a las dimensiones se dificultó debido al cambio morfológico notorio que imposibilitaba un registro de datos con precisión.

En la Figura 3-26 se puede observar que la muestra M001 tuvo una pérdida de su perímetro del 37,5 % de su inicial, con una disminución de 12 cm a 7,5 cm. El día 2, las muestras M003 y M004 tuvieron un cambio en su perímetro del 72,29 % y 64,17 %, es decir un cambio en el perímetro de 12 cm a 4,3 cm y 3,33 cm, respectivamente, con una pérdida total de las muestras al día 3. Con respecto a las muestras de película de pectina de la pulpa de café, las formulaciones P001, P003 y P004 registraron un cambio en su perímetro al día 2 llegando a 7,65, 6,25 y 6,25 cm, representado en un porcentaje de pérdida en el perímetro de 36,25 % y 47,92 %. De igual manera, se reportó al día quinto (5) una pérdida del perímetro de 72,50 % y 72,92 % para las muestras P003 y P004, respectivamente, con un 100 % de pérdida en la muestra P001.

Figura 3-26: Perímetro de películas de pectina de mucílago de café en función del tiempo.

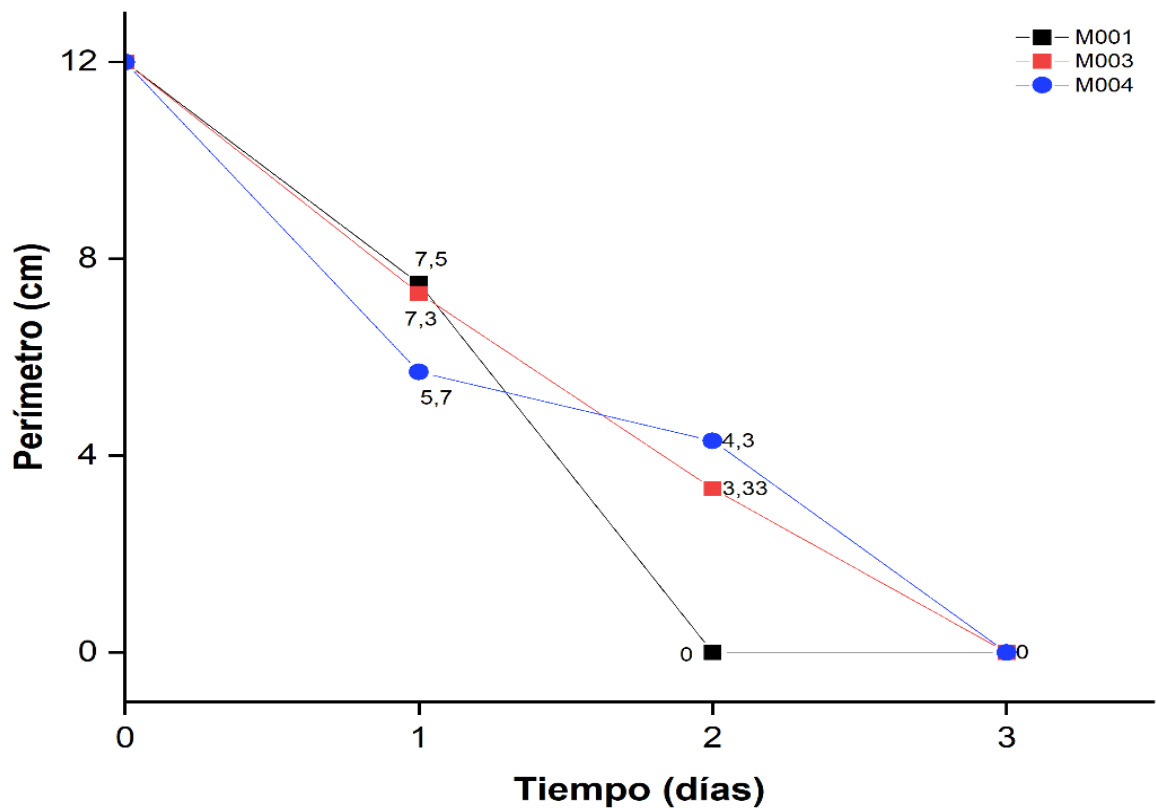
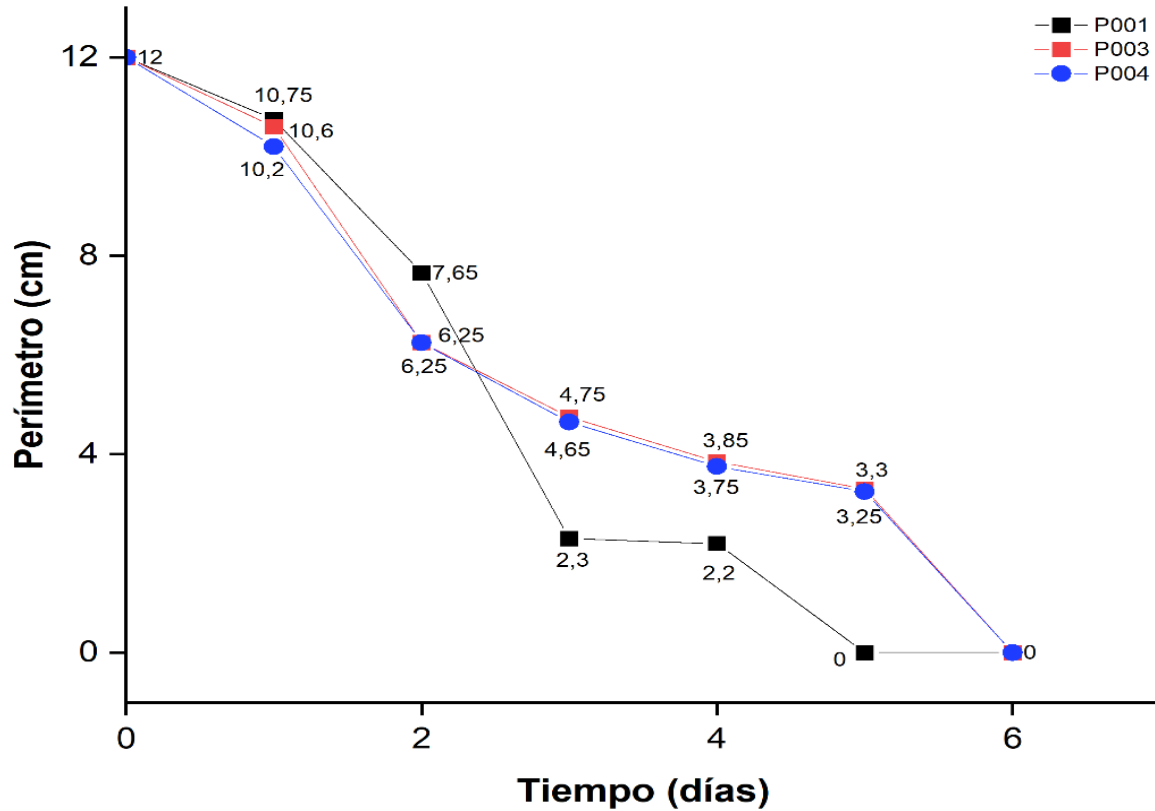
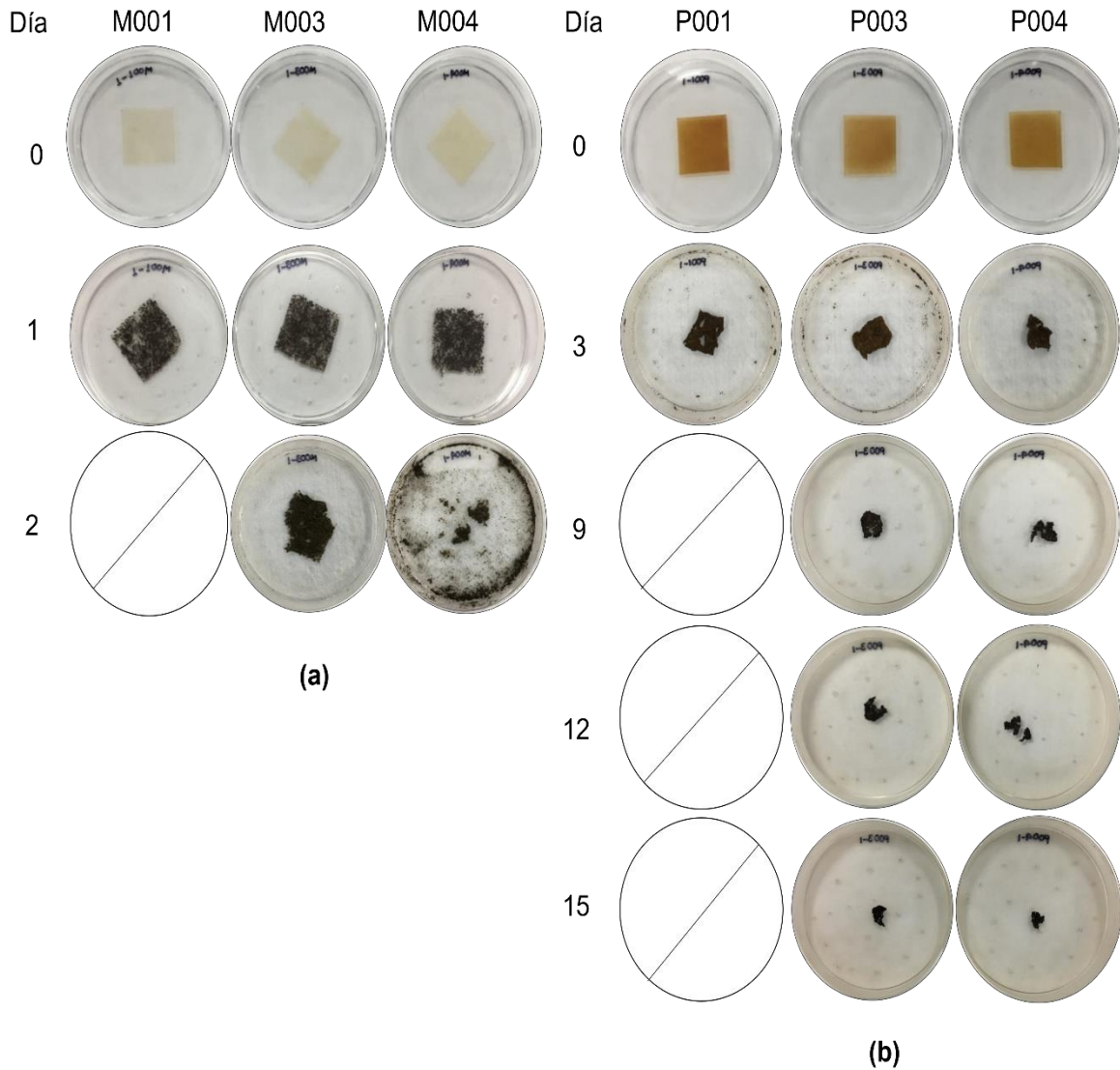


Figura 3-27: Perímetro de películas de pectina de pulpa de café en función del tiempo.

La pérdida en la morfología, principalmente con la pérdida del perímetro de las muestras analizadas, se asocia a un cambio estructural y composicional en la matriz polimérica que es originado por variables asociadas a las condiciones climáticas como la temperatura del suelo, la humedad, además, de la presencia de microorganismos, propios del suelo, que degradan las cadenas poliméricas presentes en el material.

En la Figura 3-28 se muestra un registro fotográfico de la biodegradación de las muestras en función del tiempo donde las muestras de película a base de pectina de pulpa de café tuvieron mayor estabilidad bajo suelo con un tiempo de exposición de 16 días.

Figura 3-28: Biodegradabilidad bajo suelo de películas de pectina de mucílago y pulpa de café en función del tiempo.



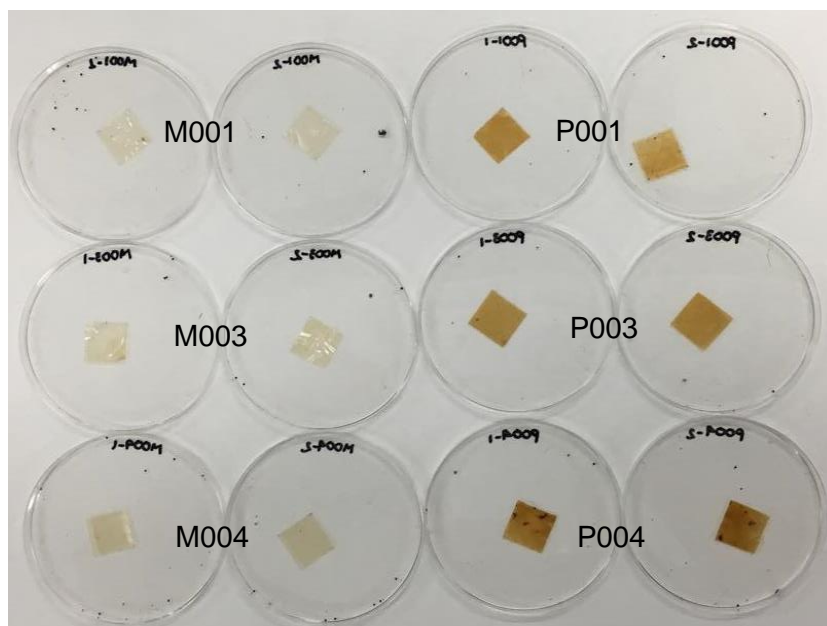
(a) Películas de pectina de mucílago y **(b)** de pulpa de café.

▪ **Biodegradabilidad de películas en exposición al aire**

El estudio de biodegradabilidad de las películas expuestas al medio ambiente (exposición al aire) (Figura 3-29) se realizó con el fin de comprobar posibles ataques de microorganismos sobre la estructura física del material polimérico, además de las

alteraciones generadas por la temperatura ambiente, la humedad, entre otras variables que no fueron controladas.

Figura 3-29: Día cero de biodegradabilidad en exposición al aire.



Los resultados obtenidos en este estudio de biodegradación con exposición al ambiente de las películas de mucílago y pulpa de café se presentan en las Figuras 3-30 y 3-31, respectivamente. Ambos resultados mostraron un patrón similar que consistía en un aumento y disminución del peso de las muestras que se atribuyen a una ganancia de humedad propia del ambiente donde se encontraban.

Durante los primeros 4 días las muestras M001, M003 y M004 registraron un porcentaje de pérdida de peso de 2,08, 2,15 y 1,85 % respecto a su peso inicial, con cambios en su peso de 0,0312 a 0,0303 g en la muestra M001, de 0,0442 a 0,0433 g para la muestra M003 y de 0,0433 a 0,0423 g para la muestra M004, como se muestra en la Figura 3-30. Sin embargo, a partir del día 12 las muestras presentaron un aumento en el peso que pudo estar asociado a la ganancia de humedad propia del lugar o a las condiciones climáticas en el día de la toma de registros. Entre los días 24 y 32, las muestras presentaron una disminución en el peso con porcentajes del 1,76, 1,02 y 1,50 % para las muestras M001,

M003 y M004, respectivamente. Asimismo, la respuesta a los resultados que se presentan en la Figura 3-31 sugieren la misma tendencia a los resultados obtenidos en las películas de pectina de mucílago de café (Figura 3-30), atribuyendo a la ganancia del peso de las muestras con la humedad del lugar, así como del material particulado presente en el ambiente.

Figura 3-30: Pérdida de peso en películas con pectina de mucílago en exposición al aire.

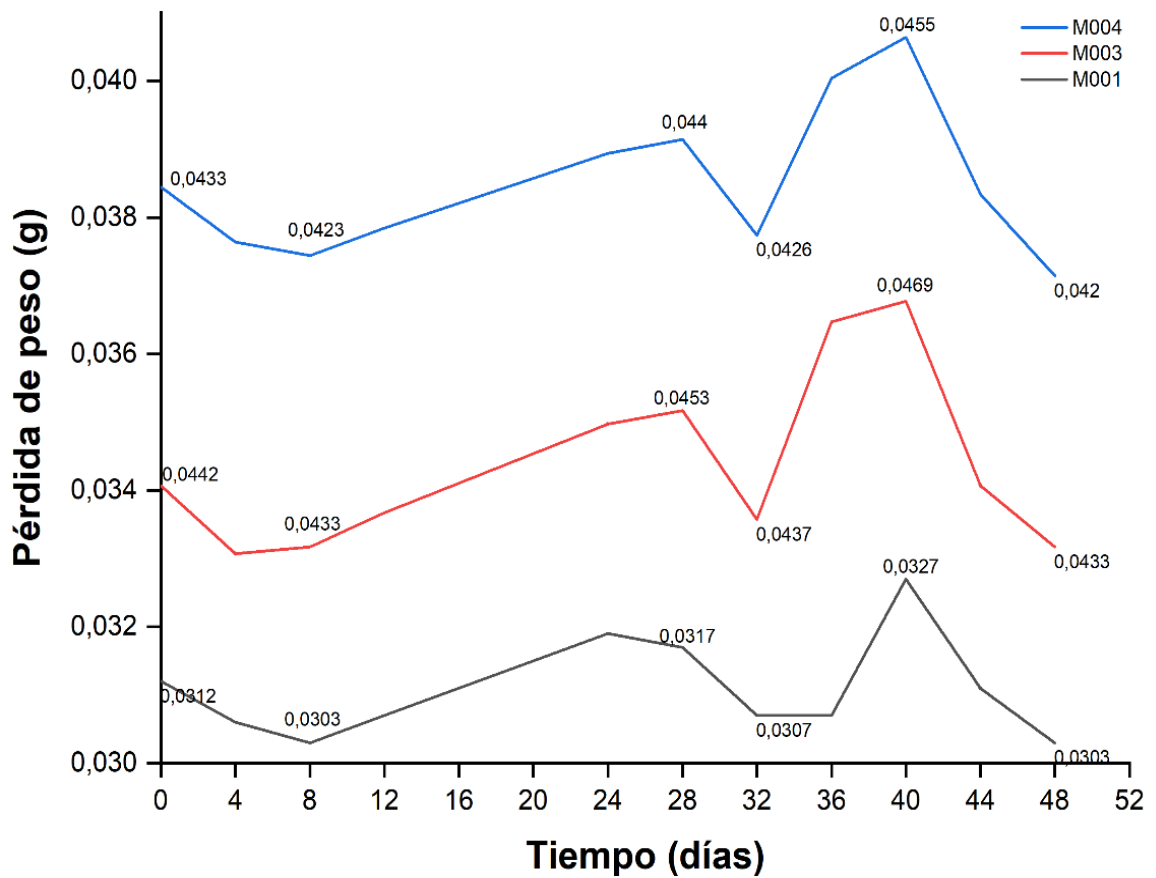
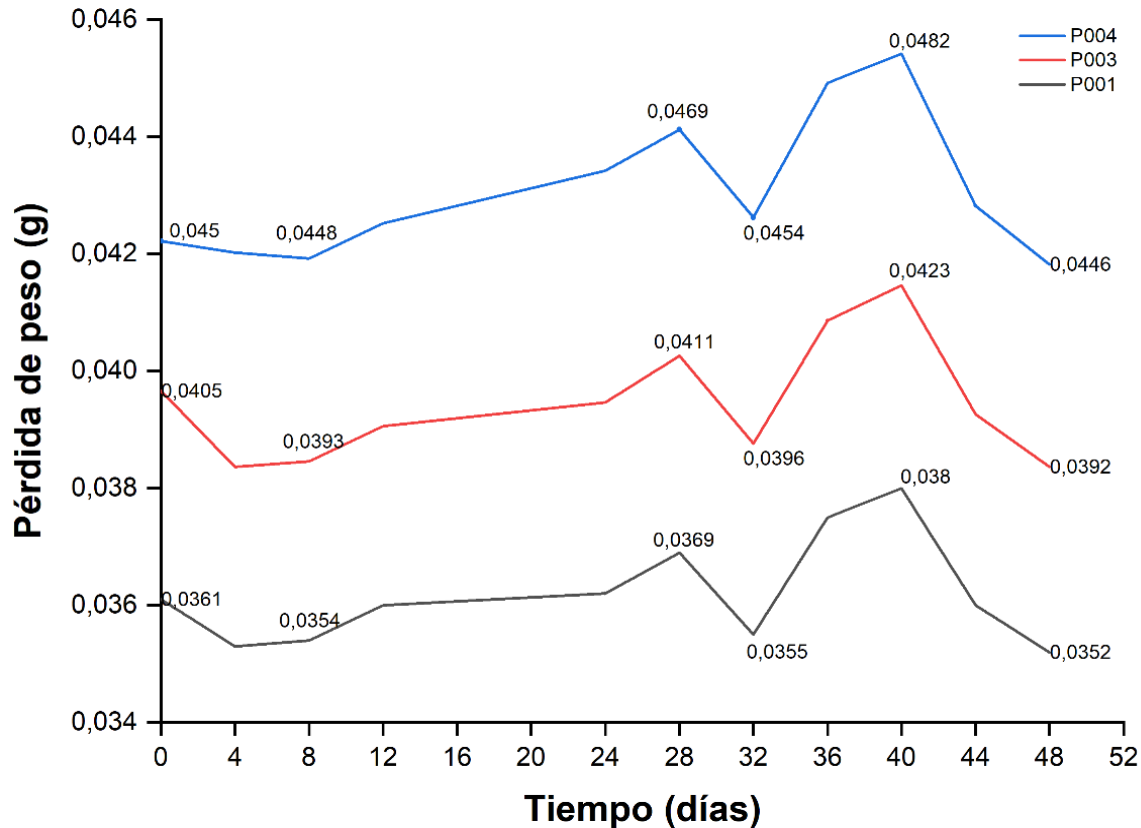
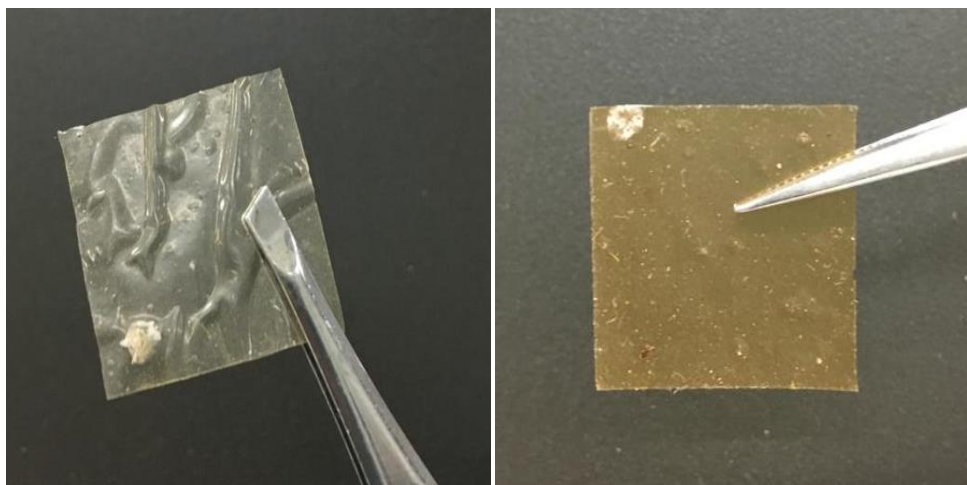


Figura 3-31: Pérdida de peso en películas con pectina de la pulpa en exposición al aire.

Durante el seguimiento de la biodegradabilidad de las películas se evidenció desde el día quinto (5) la presencia de un aro de color blanco de aspecto algodonoso, como se observó en la Figura 3-32. La presencia de dicho cuerpo extraño en la superficie de las películas se podría asociar a un posible ataque de hongos, que ven en ella una fuente de carbono y energía. Valdespino León *et al.* (2021) realizó un estudio poniendo a prueba la estabilidad de las películas frente a un ataque fúngico utilizando el *Aspergillus niger* sobre la superficie de las películas, registrando al día quinto (5) el inicio de la biodegradación de las muestras.

Figura 3-32: Evidencia de ataque microbiano sobre la superficie de las películas.

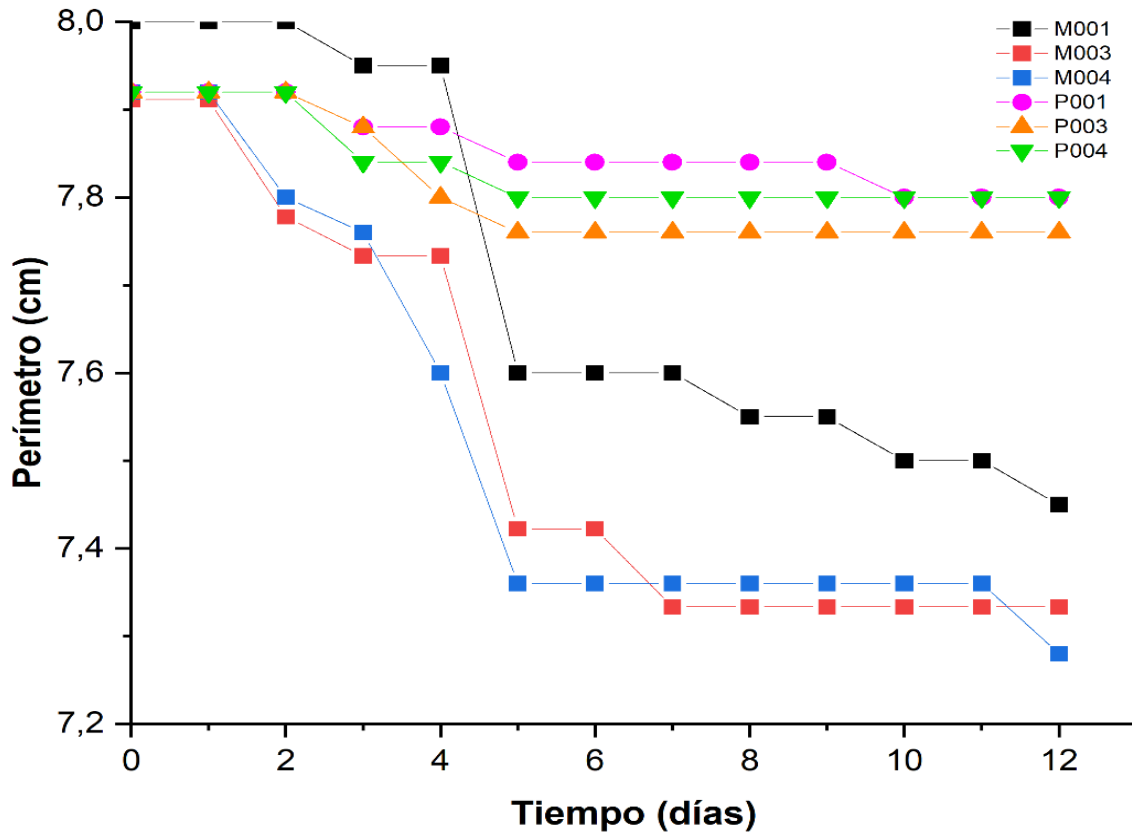


Entre tanto, las películas fueron adquiriendo una característica en particular, siendo principalmente su aspecto físico el afectado con la aparición de malformaciones en sus bordes, así como la formación de una estructura de aspecto rugoso. Las muestras mantuvieron su color y flexibilidad inicial con un grado de debilidad del material polimérico.

Por el contrario, el cambio del perímetro inicial de las muestras de películas mostró una disminución durante los primeros 5 días, como se observa en la Figura 3-33, para posteriormente mantener una estabilidad con respecto a su perímetro inicial. Los cambios se asocian posiblemente a los cambios de temperatura, la humedad, entre otros factores, provocando cambios en su estructura molecular de la matriz polimérica haciendo que ocurra un fenómeno de expansión o encogimiento de la película.

Los cambios en el perímetro de las películas expuestas al ambiente fueron menores, con pérdidas no tan significativas del material polimérico que contrario a las muestras de película expuestas en suelo, presentaron cambios morfológicos de manera progresiva y que en gran parte se debió a la presencia de microorganismos propios del suelo, así como la humedad y el pH de este.

Figura 3-33: Cambio en perímetro de las películas respecto al tiempo de biodegradabilidad en la intemperie.



La biodegradación de las películas basadas únicamente con pectina de mucilago y pulpa de café (M001 y P001) manifestaron tener poca estabilidad en la biodegradación bajo suelo, en gran parte por la alta solubilidad de las pectinas. Sin embargo, las películas mostraron mejoras en aquellas formulaciones que se adicionaron agentes de refuerzo, siendo las formulaciones P003 con celulosa y P004 con celulosa / extracto de borra de café las de mejor estabilidad bajo suelo, con un tiempo de estudio de 16 días.

De tal forma que, para llegar a obtener mejores resultados en función de la estabilidad del material plástico frente a la biodegradación depende en gran medida de la composición. Por ejemplo, en películas con almidón / poliuretano se reportó una biodegradación de hasta 180 días (Tai *et al.*, 2019), resultado superior debido a la presencia de resina sintética que se caracteriza por su alta resistencia a la abrasión y al desgaste. En películas compuestas

por almidón / quitosano y extracto de *Acacia Catechu* realizado por Quader *et al.* (2015), se registró un tiempo de biodegradación de hasta 4 semanas.

Finalmente, se proyecta una aplicación en función de los resultados obtenidos, siendo necesario seguir con la búsqueda de nuevas alternativas que permitan mejorar la respuesta en la estabilidad del material frente a ambientes húmedos. Las películas 100 % elaboradas con pectinas de origen natural se convierten en un desafío para la ciencia ya que estos materiales son solubles en agua, además de tener poca capacidad de resistencia a la tracción por lo que formulaciones con un 50 % de polímeros sintéticos y un 50 % de polímeros naturales es hasta el momento una buena alternativa al cambio de los materiales elaborados totalmente de polímeros sintéticos.

4. Conclusiones y recomendaciones

4.1 Conclusiones

- Se comprobó que los residuos de la industria cafetera son una fuente con alto potencial para la extracción de compuestos de interés como la pectina, y que a su vez se contribuye a reducir, con el aprovechamiento, el impacto negativo ocasionado al medioambiente por la acumulación de dichos residuos. Los resultados en el análisis de extracción se obtuvieron bajo un diseño experimental evaluando variables como el tiempo y la temperatura en función del rendimiento. En el caso del mucílago de café, la interacción de las variables tuvo una contribución positiva en la extracción que a medida que aumenta el tiempo y la temperatura, el rendimiento de la extracción es mayor. Por el contrario, la variable de mayor influencia en la extracción de pectina en la pulpa de café fue la temperatura, representando una contribución positiva frente a la contribución negativa que tuvo la variable tiempo. Por consiguiente, el resultado de la evaluación de los parámetros operacionales indica que la aplicación de altas temperaturas en el proceso de extracción se logra conseguir una mayor hidrólisis de la cadena del polímero traducido a unidades de ácido galacturónico libres.

Bajo las condiciones de operación establecidas, el rendimiento de extracción promedio en base seca de la pectina de mucílago (80 °C, 45 minutos y pH 1,8) y pulpa de café (90 °C, 50 minutos y pH 1,8) fueron de $10,98 \pm 0,28$ % y $6,14 \pm 0,18$ %, respectivamente. La pectina del mucílago presentó un DE de $87,93 \pm 1,54$ %, peso equivalente de $1127,94 \pm 3,24$ mg/meq, acidez libre de $0,89 \pm 0,00$ meq/g, contenido de metoxilo de $7,05 \pm 0,27$ % y una característica morfológica de aspecto rugoso y con presencia de orificios. Por otro, la pectina de la pulpa se caracterizó por tener un DE de $75,76 \pm 0,45$ %, peso equivalente $647,57 \pm 4,46$ mg/meq, acidez libre de $1,54 \pm 0,01$ meq/g, contenido de metoxilo de 4,85

$\pm 0,26$ % y una morfología de la superficie de aspecto heterogéneo y rugoso, sin evidencia de orificios.

- Las películas compuestas, desarrolladas con pectina y reforzadas con celulosa y aceite, presentaron mejores resultados frente a la formulación compuesta únicamente con pectina. La formulación con la inclusión de celulosa (M003) en las películas con pectina de mucílago, reveló mejores resultados frente al resto de las formulaciones con una resistencia a la tracción de $2,41 \pm 0,16$ MPa y solubilidad en agua de $63,57 \pm 4,25$ %. De igual manera, en el caso de las películas basadas en pectina de pulpa, la formulación con inclusión de celulosa y extracto de borra de café (P004) obtuvo resultados de resistencia a la tracción de $3,41 \pm 0,78$ MPa y solubilidad en agua de $40,47 \pm 5,26$ %, siendo la mejor en comparación con las formulaciones P001, P002 y P004.

En base a lo anterior, las películas basadas en pectina de la pulpa presentaron mejores resultados en función de las propiedades mecánicas y de solubilidad frente a las películas basadas de pectina de mucílago, resultado que puede estar relacionado con los resultados obtenidos en función de las propiedades estructurales y de solubilidad de las pectinas y las películas, lo que probablemente originó películas poco estables.

- La biodegradabilidad de las películas reveló la importante función que tienen los agentes de refuerzo en el desarrollo de películas basadas en pectinas. En el caso de las películas basadas en pectina del mucílago de café, la formulación con el mejor resultado fue la película con la inclusión de la celulosa con un porcentaje de biodegradabilidad del 23,77, 55,30 y 100 % dentro de las 24, 48 y 72 horas de estudio que, al comparar con la formulación sin presencia de los agentes de refuerzo y con porcentajes de biodegradabilidad del 50 y 100 % dentro de las 24 y 48 horas fueron menores, lo que probablemente la incorporación de la celulosa brindó mayor estabilidad frente a la humedad, resistencia térmica y al mismo tiempo a posibles ataques de microorganismos presentes en el suelo, retardando así su biodegradación. En consecuencia, las películas basadas con pectina de pulpa de las formulaciones con celulosa (P003) y extracto de borra/celulosa (P004), tuvieron una estabilidad bajo suelo de hasta 16 días, reportando porcentajes de biodegradabilidad de 45,03 a 49,94 y 35,66 a 39,57 % entre las 24 y 120 horas, respectivamente, con una tendencia lenta de la biodegradabilidad frente a la

muestra de la formulación control (P001) con un 100 % de biodegradabilidad al día quinto (5).

Igualmente, los resultados indicaron que las películas basadas en pectina de la pulpa presentaron mejores condiciones y con altas expectativas en función de sus propiedades tanto mecánicas y de solubilidad en agua como de la biodegradabilidad del material polimérico, por lo que se presenta como un producto que se proyecta para futuras aplicaciones en la industria de los alimentos como bioempaques.

Con la inclusión de los agentes de refuerzo se buscó proporcionar una estabilidad de las películas, buscando ralentizar su biodegradación bajo condiciones ambientales no controladas. Sin embargo, y al obtener resultados prometedores, se hace necesario seguir en la búsqueda de mejoras para obtener un material plástico con buenas propiedades mecánicas y de solubilidad que permitan aumentar la vida útil del mismo. La mezcla es un aspecto transcendental para las propiedades y diseño del producto y del cual implica la diversidad de aplicaciones que se pueda dar en la industria. Promover el uso de polímeros naturales frente a los sintéticos es hoy en día un reto para la ciencia y del que se busca eliminar de manera progresiva el uso de estos últimos, recurriendo al uso de nuevas tecnologías que permitan obtener prototipos de plásticos que cumplan con las condiciones adecuadas en función de la aplicación.

4.2 Recomendaciones

Para la realización de estudios posteriores que permitan complementar esta tesis de maestría se hacen las siguientes recomendaciones.

- Realizar estudios de extracción de la pectina bajo la aplicación de otros métodos extractivos como la extracción enzimática en función del rendimiento y de la calidad fisicoquímica de la pectina, este último con aplicación de pruebas de precisión de análisis como DRX, Raman, entre otras, que permitan conocer a profundidad el polímero a analizar.
- Realizar estudios de optimización del proceso con la extracción de pectina a escala piloto con el propósito de evaluar el costo-beneficio del proceso y la viabilidad de este.
- Diseñar nuevas estrategias con respecto a las formulaciones en donde se tenga en cuenta las variaciones en las cantidades de los compuestos a adicionar. De igual manera, replantear el uso de nuevos polímeros (de preferencia de origen natural) y de agentes de refuerzo con el único propósito de obtener mejoras significativas en función de las propiedades fisicomecánicas y de barrera.
- Continuar con nuevos estudios de caracterización de las películas como la permeabilidad al vapor de agua, la permeabilidad al oxígeno, color y microscopía de fuerza atómica, entre otras. Buscando siempre obtener la mayor información posible con el fin de llegar a una aplicación del material en la industria en función de los resultados de la caracterización.
- Realizar pruebas de biodegradación aeróbica de materiales plástico en el suelo, bajo normas como la ASTM D5988-18, que permitan evaluar el porcentaje de generación neta de carbono gaseoso en función del tiempo en el que el plástico está expuesto en el suelo. Además de realizar análisis de mineralización del suelo en función del tiempo de exposición. Asimismo, estudiar la biodegradabilidad de las películas empleando otros

métodos con aplicación de normas como la ASTM D4102 y D4871, evaluando la degradación térmica del material.

Bibliografía

- Adilah, A. N., Jamilah, B., Noranizan, M. A., & Nur Hanani, Z. A. (2018). Utilization of mango peel extracts on the biodegradable films for active packaging. *Food Packaging and Shelf Life*, 16, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.01.006>
- Akinalan Balik, B., Argin, S., M. Lagaron, J., & Torres-Giner, S. (2019). Preparation and characterization of electrospun pectin-based films and their application in sustainable aroma barrier multilayer packaging. *Applied Sciences*, 9(23), 2–24. <https://doi.org/10.3390/app9235136>
- Arriola Delia, & Garcia Ricardo. (1985). Caracterización química de la pectina obtenida de desechos del beneficio de café. *Revista Científica*, 3(1), 13–18.
- Barreto, G. E., Púa, A. L., De Alba, D. D., & Pión, M. M. (2017). Extracción y caracterización de pectina de mango de azúcar (*Mangifera indica* L.). *Temas Agrarios*, 22(1), 78. <https://doi.org/10.21897/rta.v22i1.918>
- Bátori, V., Jabbari, M., Åkesson, D., Lennartsson, P. R., Taherzadeh, M. J., & Zamani, A. (2017). Production of Pectin-Cellulose Biofilms: A New Approach for Citrus Waste Recycling. *International Journal of Polymer Science*, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2017/9732329>
- BeMiller, J. N. (1986). An Introduction to Pectins: Structure and Properties. *American Chemical Society*, 2–12. <https://doi.org/10.1021/bk-1986-0310.ch001>
- Bonnin, E., & Lahaye, M. (2013). Contribution of cell wall-modifying enzymes to the texture of fleshy fruits. The example of apple. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 78(3), 417–427. <https://doi.org/10.2298/JSC121123004B>
- Braham, J. E., & Bressani, R. (1978). *Pulpa de café: Composición, tecnología y utilización* (J. E. Braham & R. Bressani (eds.)). Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá, INCAP*.
- Canteri-Schemin, M. H., Ramos Fertoni, H. C., Waszczynskyj, N., & Wosiacki, G. (2005). Extraction of Pectin From Apple Pomace. *Brazilian Archives of Biology and*

- Technology*, 48(2), 259–266. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132005000200013>
- Chan, S. Y., & Choo, W. S. (2013). Effect of extraction conditions on the yield and chemical properties of pectin from cocoa husks. *Food Chemistry*, 141(4), 3752–3758. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.097>
- Chen, Y., Zhang, J. G., Sun, H. J., & Wei, Z. J. (2014). Pectin from *Abelmoschus esculentus*: Optimization of extraction and rheological properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 70, 498–505. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.07.024>
- Comité de Cafeteros de Antioquia. (2022). *Producción de café de Colombia cierra 2021 en 12,6 millones de sacos*. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. <https://fncantioquia.org/produccion-de-cafe-de-colombia-cierra-2021-en-126-millones-de-sacos/>
- El Halal, S. L. M., Colussi, R., Deon, V. G., Pinto, V. Z., Villanova, F. A., Carreño, N. L. V., Dias, A. R. G., & Zavareze, E. D. R. (2015). Films based on oxidized starch and cellulose from barley. *Carbohydrate Polymers*, 133, 644–653. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.07.024>
- Endress, H.-U. (1991). Nonfood Uses of Pectin. In *The Chemistry and Technology of pectin* (pp. 251–268).
- Faravash, R. S., & Ashtiani, F. Z. (2007). The effect of pH, ethanol volume and acid washing time on the yield of pectin extraction from peach pomace. *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 1177–1187. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01324.x>
- Federación de cafeteros de Colombia. (2020). *Regiones cafeteras de Colombia*. Café de Colombia. <https://www.cafedecolombia.com/particulares/regiones-cafeteras/>
- Ferreira Ardila, S. (2007). Pectinas: aislamiento, caracterización y producción a partir de frutas tropicales y de los residuos de su procesamiento industrial [Universidad Nacional de Colombia]. In *Facultad de Ciencias* (Vol. 1). http://ciencias.bogota.unal.edu.co/fileadmin/Facultad_de_Ciencias/Publicaciones/Archivos_Libros/Libros_Farmacia/Pectinas/pectinas.pdf
- Gharibzahedi, S. M. T., Smith, B., & Guo, Y. (2019). Pectin extraction from common fig skin by different methods: The physicochemical, rheological, functional, and structural evaluations. *International Journal of Biological Macromolecules*, 136, 275–283. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.040>

- Greenpeace. (2019). *¿Cómo llega el plástico a los océanos y qué sucede entonces? - ES | Greenpeace España*. Greenpeace. <https://es.greenpeace.org/es/trabajamos-en/consumismo/plasticos/como-llega-el-plastico-a-los-oceanos-y-que-sucede-entonces/>
- Hosseini, S. S., Khodaiyan, F., Kazemi, M., & Najari, Z. (2019). Optimization and characterization of pectin extracted from sour orange peel by ultrasound assisted method. *International Journal of Biological Macromolecules*, 125, 621–629. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.096>
- Kian, L. K., Jawaid, M., Ariffin, H., & Karim, Z. (2018). Isolation and characterization of nanocrystalline cellulose from roselle-derived microcrystalline cellulose. *International Journal of Biological Macromolecules*, 114, 54–63. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.065>
- Lei, Y., Wu, H., Jiao, C., Jiang, Y., Liu, R., Xiao, D., Lu, J., Zhang, Z., Shen, G., & Li, S. (2019). Investigation of the structural and physical properties, antioxidant and antimicrobial activity of pectin-konjac glucomannan composite edible films incorporated with tea polyphenol. *Food Hydrocolloids*, 94, 128–135. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.03.011>
- Liew, S. Q., Chin, N. L., & Yusof, Y. A. (2014). Extraction and Characterization of Pectin from Passion Fruit Peels. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2, 231–236. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2014.11.033>
- Mellinas, C., Ramos, M., Jiménez, A., & Garrigós, M. C. (2020). Recent trends in the use of pectin from agro-waste residues as a natural-based biopolymer for food packaging applications. *Materials*, 13(3), 1–17. <https://doi.org/10.3390/ma13030673>
- Mendes, J. F., Martins, J. T., Manrich, A., Sena Neto, A. R., Pinheiro, A. C. M., Mattoso, L. H. C., & Martins, M. A. (2019). Development and physical-chemical properties of pectin film reinforced with spent coffee grounds by continuous casting. *Carbohydrate Polymers*, 210, 92–99. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.01.058>
- Minjares-Fuentes, R., Femenia, A., Garau, M. C., Meza-Velázquez, J. A., Simal, S., & Rosselló, C. (2014). Ultrasound-assisted extraction of pectins from grape pomace using citric acid: A response surface methodology approach. *Carbohydrate Polymers*, 106(1), 179–189. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.02.013>
- Muhammad, N. W. F., Nurrulhidayah, A. F., Hamzah, M. S., Rashidi, O., & Rohman, A. (2020). Physicochemical properties of dragon fruit peel pectin and citrus peel pectin:

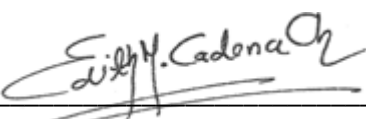
- A comparison. *Food Research*, 4(Suppl. 1), 266–273.
[https://doi.org/10.26656/fr.2017.4\(S1\).S14](https://doi.org/10.26656/fr.2017.4(S1).S14)
- Murthy, P. S., & Madhava Naidu, M. (2012). Sustainable management of coffee industry by-products and value addition - A review. *Resources, Conservation and Recycling*, 66, 45–58. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2012.06.005>
- Oakenfull, D. . (1991). The Chemistry of High-Methoxyl Pectins. In I. Academic Press (Ed.), *The Chemistry and Technology of pectin* (pp. 87–108).
- Pereira, P. H. F., Oliveira, T. Í. S., Rosa, M. F., Cavalcante, F. L., Moates, G. K., Wellner, N., Waldron, K. W., & Azeredo, H. M. C. (2016). Pectin extraction from pomegranate peels with citric acid. *International Journal of Biological Macromolecules*, 88, 373–379. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.03.074>
- Pinheiro, E. R., Silva, I. M. D. A., Gonzaga, L. V., Amante, E. R., Teófilo, R. F., Ferreira, M. M. C., & Amboni, R. D. M. C. (2008). Optimization of extraction of high-ester pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*) with citric acid by using response surface methodology. *Bioresource Technology*, 99(13), 5561–5566. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.10.058>
- Puerta Quintero, G. I., & Ríos Arias, S. (2011). Composición química del mucílago de café, según el tiempo de fermentación y refrigeración. *Cenicafé*, 62(2), 23–40.
- Quader, F. B., Khan, R. A., Islam, M. A., Saha, S., & Sharmin, K. N. (2015). Development and Characterization of a Biodegradable Colored Film Based on Starch and Chitosan by Using Acacia Catechu. *Journal of Environmental Science & Natural Resources*, 8(2), 123–130.
- Ranganna, S. (1986). *Handbook of Analysis and Quality Control for Fruit and Vegetable Products* (2nd ed).
https://books.google.com.co/books?hl=es&lr=&id=jQN8Kpj0UOMC&oi=fnd&pg=PA1&ots=fdVIYTklxJ&sig=_B0lwkcbswnkqfDkAkbO-vxtqZc&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false
- Ridley, B. L., O'Neill, M. A., & Mohnen, D. (2001). Pectins: Structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling. *Phytochemistry*, 57(6), 929–967. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00113-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00113-3)
- Rodríguez Valencia, N., & Zambrano Franco, D. A. (2011). Producción de alcohol a partir del mucílago del café. *Revista Cenicafé*, 62(1), 56–69.
[http://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/541/1/arc064\(02\)78-93.pdf](http://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/541/1/arc064(02)78-93.pdf)

- Roy, S., & Rhim, J. W. (2021). Fabrication of pectin/agar blended functional film: Effect of reinforcement of melanin nanoparticles and grapefruit seed extract. *Food Hydrocolloids*, *118*, 106823. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106823>
- Sánchez Aldana, D., Contreras-Esquivel, J. C., Nevárez-Moorillón, G. V., & Aguilar, C. N. (2015). Caracterización de películas comestibles a base de extractos pécticos y aceite esencial de limón Mexicano. *CyTA - Journal of Food*, *13*(1), 17–25. <https://doi.org/10.1080/19476337.2014.904929>
- Santos, E. E., Amaro, R. C., Bustamante, C. C. C., Guerra, M. H. A., Soares, L. C., & Froes, R. E. S. (2020). Extraction of pectin from agroindustrial residue with an ecofriendly solvent: use of FTIR and chemometrics to differentiate pectins according to degree of methyl esterification. *Food Hydrocolloids*, *107*, 105921. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105921>
- Sengar, A. S., Rawson, A., Muthiah, M., & Kalakandan, S. K. (2020). Comparison of different ultrasound assisted extraction techniques for pectin from tomato processing waste. *Ultrasonics Sonochemistry*, *61*, 104812. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104812>
- Serrat-Díaz, M., De la Fé-Isaac, Á. D., De la Fé-Isaac, J. A., & Montero-Cabrales, C. (2018). Extracción y caracterización de pectina de pulpa de café de la variedad Robusta. *Revista Cubana de Química*, *30*(3), 522–538.
- Sood, A., & Saini, C. S. (2022). Red pomelo peel pectin based edible composite films: Effect of pectin incorporation on mechanical, structural, morphological and thermal properties of composite films. *Food Hydrocolloids*, *123*, 107–135. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107135>
- Tai, N. L., Adhikari, R., Shanks, R., & Adhikari, B. (2019). Aerobic biodegradation of starch–polyurethane flexible films under soil burial condition: Changes in physical structure and chemical composition. *International Biodeterioration and Biodegradation*, *145*, 104–793. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.104793>
- Thankur, B. R., Singh, R. K., Handa, A. K., & Rao, D. M. A. (1997). Chemistry and uses of pectin - A review. *A Review, Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, *37*(1), 47–73. <https://doi.org/10.1080/10408399709527767>
- Tharanathan, R. N. (2003). Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends in Food Science & Technology*, *14*(3), 71–78. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(02\)00280-7](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(02)00280-7)

- Valdespino-León, M., Calderón-Domínguez, G., De La Paz Salgado-Cruz, M., Rentería-Ortega, M., Farrera-Rebollo, R. R., Morales-Sánchez, E., Gaona-Sánchez, V. A., & Terrazas-Valencia, F. (2021). Biodegradable Electrospayed Pectin Films: An Alternative to Valorize Coffee Mucilage. *Waste and Biomass Valorization*, *12*, 2477–2494. <https://doi.org/10.1007/s12649-020-01194-z>
- Valencia, N. R. (2000). Manejo de residuos en la agroindustria cafetera. *Seminario Internacional Gestión Integral De Residuos Sólidos Y Peligrosos, Siglo Xxi*, 1–10.
- Voragen, A. G. J., Coenen, G. J., Verhoef, R. P., & Schols, H. A. (2009). Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. *Structural Chemistry*, *20*, 263–275. <https://doi.org/10.1007/s11224-009-9442-z>
- Vriesmann, L. C., Teófilo, R. F., & Lúcia de Oliveira Petkowicz, C. (2012). Extraction and characterization of pectin from cacao pod husks (*Theobroma cacao* L.) with citric acid. *LWT - Food Science and Technology*, *49*(1), 108–116. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.04.018>
- Wu, J., Zhong, F., Li, Y., Shoemaker, C. F., & Xia, W. (2013). Preparation and characterization of pullulan-chitosan and pullulan-carboxymethyl chitosan blended films. *Food Hydrocolloids*, *30*, 82–91. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.04.002>
- Yabe, T. (2018). New understanding of pectin as a bioactive dietary fiber. *Journal of Food Bioactives*, *3*, 95–100. <https://doi.org/10.31665/jfb.2018.3152>
- Yapo, B M. (2007). Effect of extraction conditions on the yield , purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts. *Food Chemistry*, *100*, 1356–1364. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.012>
- Yapo, Beda M. (2011). Pectic substances: From simple pectic polysaccharides to complex pectins - A new hypothetical model. *Carbohydrate Polymers*, *86*, 373–385. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.05.065>
- Ye, S., He, S., Su, C., Jiang, L., Wen, Y., Zhu, Z., & Shao, W. (2018). Morphological, release and antibacterial performances of amoxicillin-loaded cellulose aerogels. *Molecules*, *23*(8), 1–9. <https://doi.org/10.3390/molecules23082082>
- Ye, S., Zhu, Z., Wen, Y., Su, C., Jiang, L., He, S., & Shao, W. (2019). Facile and green preparation of pectin/cellulose composite films with enhanced antibacterial and antioxidant behaviors. *Polymers*, *11*(57). <https://doi.org/10.3390/polym11010057>
- Yu, M., Xia, Y., Zhou, M., Guo, Y., Zheng, J., & Zhang, Y. (2021). Effects of different extraction methods on structural and physicochemical properties of pectins from

finger citron pomace. *Carbohydrate Polymers*, 258, 117662.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117662>

Firmas:

A handwritten signature in black ink, appearing to read "E. H. Cadena", written over a horizontal line.

Director(a)

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Alejandro", written over a horizontal line.

Estudiante