

PRODUCCIÓN DE ALCOHOL A PARTIR DEL MUCÍLAGO DE CAFÉ

Nelson Rodríguez-Valencia*; Diego Antonio Zambrano-Franco*

RESUMEN

RODRÍGUEZ V., N.; ZAMBRANO F., D.A. Producción de alcohol a partir del mucílago de café. Revista Cenicafé 62 (1): 56-69. 2011

Para conocer los rendimientos de la obtención de alcohol a partir del mucílago de café y determinar la factibilidad técnica y económica del proceso productivo, se caracterizó el mucílago proveniente de un desmucilagador mecánico, operado con un flujo de agua de 550 ml.min⁻¹. Se evaluaron 16 tratamientos, en un diseño completamente aleatorio en arreglo factorial 4x4, con cuatro tipos de hidrólisis (natural, ácida, alcalina y enzimática) y cuatro inóculos de la levadura *Sachharomyces cerevisiae* (presente de forma natural en el mucílago, dos levaduras prensadas comerciales y una levadura seca comercial), para favorecer los procesos de hidrólisis y fermentación del mucílago de café. El mucílago se utilizó con menos de dos horas de generado; la hidrólisis ácida se realizó con ácido sulfúrico 0,2 mol.L⁻¹, la hidrólisis alcalina con hidróxido de sodio 0,25% y la hidrólisis enzimática con una enzima pectinolítica a una concentración de 1.200 ppm. La hidrólisis del mucílago no mejoró los rendimientos del proceso de producción de alcohol. No hubo diferencias significativas entre los rendimientos de alcohol con las levaduras comerciales evaluadas en los tratamientos sin hidrólisis, que mostraron el mayor promedio de rendimiento. La solución mucílago-agua representó el 25,24% del peso del fruto fresco, obteniendo para el tratamiento mucílago sin hidrolizar e inoculado con levaduras comerciales, un valor de 57,90 ml de alcohol por kilogramo de mucílago sin diluir, con 98,60% de etanol en promedio. Los residuos de la destilación representaron el 44,42% del volumen inicial puesto a destilar, con una DQO media de 119.689 ppm, generándose 11 L de vinazas por cada litro de etanol obtenido.

Palabras clave: Biocombustibles, alcohol carburante, subproductos del café, fermentación alcohólica.

ABSTRACT

The mucilage coming from a mechanical demucilager operated with a water flow of 550 ml.min⁻¹ was characterized in order to know the yields of obtaining alcohol from coffee mucilage and determine the technical and economic feasibility of the production process. Sixteen treatments were evaluated in a completely randomized 4x4 factorial arrangement with four types of hydrolysis (natural, acidic, alkaline and enzymatic), and four yeast inocula *Sachharomyces cerevisiae* (naturally present in the mucilage, two commercial pressed yeasts and a commercial dry yeast) to promote the processes of hydrolysis and fermentation of coffee mucilage. The mucilage was used with less than two hours of generation; the acid hydrolysis was performed with sulfuric acid 0.2 mol.L⁻¹, alkaline hydrolysis with sodium hydroxide 0.25% and the enzymatic hydrolysis with a pectinolytic enzyme concentration of 1,200 ppm. The hydrolysis of the mucilage did not improve the yields of alcohol production process. There were no significant differences between the yields of alcohol with commercial yeasts evaluated in treatments without hydrolysis that showed the highest average performance. The mucilage-water solution represented 25.24% of the weight of fresh fruit, obtaining mucilage unhydrolyzed and inoculated with commercial yeasts with a value of 57.90 ml of alcohol per kg of undiluted mucilage, with 98.60% of ethanol on average for the treatment. The destillation residues represented 44.42% of the initial volume placed destil, with an average COD of 119,689 ppm, generating 11 L of vinasse per liter of ethanol produced.

Keywords: Biofuels, fuel alcohol, coffee byproducts, alcoholic fermentation.

* Investigador Científico II. Gestión de Recursos Naturales y Conservación y Calidad, respectivamente. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia.

Las nuevas reglamentaciones en el ámbito ambiental, tanto nacional como internacional, propenden porque el productor se responsabilice de la buena disposición y tratamiento de los residuos que se generen en su proceso productivo (sólidos, líquidos y gaseosos), de forma que no ocasionen impactos ambientales adversos para el ecosistema, a la vez que buscan minimizar la generación de los gases tipo invernadero, por su efecto sobre el calentamiento global del planeta, entre los que se destacan los óxidos de nitrógeno y de azufre, provenientes de la combustión de combustibles fósiles como el carbón y el petróleo.

En la zona cafetera se generan subproductos como la pulpa y el mucílago de café obtenidos durante el beneficio del fruto, que de no ser tratados de forma apropiada se convierten en importantes fuentes de contaminación, pero que podrían ser utilizados para la producción de alcohol carburante, con dos propósitos: evitar la contaminación ambiental en la zona cafetera y producir combustibles limpios a partir de materiales renovables.

El mucílago forma parte del mesocarpio del fruto de café y puede retirarse del grano por medio de esfuerzos mecánicos, utilizando desmucilaginosos (20), que permiten obtenerlo puro o en solución acuosa, sin fermentar, siendo aprovechable para la alimentación animal (15), producción de pectinas (22), producción de miel de café (26) o mediante fermentación natural, dejando el café despulpado en los tanques de lavado, durante un tiempo aproximado de 18 horas, con lo cual se degrada el mucílago, pudiéndose utilizar fermentado para la producción de biogás (23).

Desde el punto de vista físico, el mucílago es un hidrogel (28). Químicamente, el mucílago contiene agua (alrededor del 90%), pectinas (alrededor del 10% en base seca)

y azúcares totales (alrededor del 80% en base seca) (22). El mucílago representa, en base húmeda, alrededor del 14,85% del peso del fruto fresco (17). En términos de volumen, por cada kilogramo de café cereza se producen 91 ml de mucílago puro (31). Además, el promedio de la producción de mucílago fresco es de 768 kg.ha-año⁻¹ (21).

Investigaciones desarrolladas en Cenicafé permitieron calcular que el mucílago fresco, cuando no es utilizado en forma adecuada, representa el 28% del problema de contaminación generado en el proceso de beneficio húmedo del café (32). Por cada millón de sacos de 60 kg de café almendra que Colombia exporta se generan aproximadamente 55.500 toneladas de mucílago fresco, que si no se utiliza adecuadamente produciría una contaminación equivalente a la generada durante un año, en excretas y orina, por una población de 310.000 habitantes.

El bioetanol se obtiene por fermentación de medios azucarados hasta lograr un grado alcohólico, después de la fermentación, en torno al 10%-15%, concentrándose por destilación para la obtención del denominado “alcohol hidratado” (4%-5% de agua) o llegar hasta el alcohol absoluto (99,4% min. de pureza) tras un proceso específico de deshidratación. Esta última calidad es la necesaria si se quiere utilizar el alcohol en mezclas con gasolina, en vehículos convencionales, sin realizar modificaciones al motor (3).

Los primeros trabajos de investigación relacionados con la producción de alcohol a partir de los subproductos del café fueron realizados en Cenicafé, por Calle (7), utilizando desmucilaginoso químico con hidróxido de sodio al 4% y fermentación con *Sachharomyces cerevisiae*. Después de 210 destilaciones realizadas a partir de los subproductos provenientes de 200 kg de café, Calle (7) obtuvo un rendimiento industrial de 1 L

de alcohol de 90°GL por cada arroba (@) de café pergamino seco (c.p.s.) producida, equivalente a 1,5 L de etanol por cada 100 kg de café cereza.

Calle (6), estudió las condiciones para la obtención de alcohol a partir de la pulpa y el mucílago de café, encontrando que de los subproductos generados en el beneficio de 100 kg de café cereza pueden obtenerse en promedio 1,2 L de alcohol etílico de 85°GL, equivalente a 0,6 L de etanol por cada arroba de café pergamino seco. En otro estudio, Cabrera *et al.* (5), reportan la obtención entre 2,0 a 2,5 g de etanol en 48 horas, cuando la fermentación se realiza a 28°C, a partir de 200 g de cerezas frescas, lo que equivale a un volumen de 0,95 L de etanol por cada arroba de café pergamino seco; igualmente, reportan mejorías en los rendimientos del proceso en un 20%, en 48 horas, cuando realizaron un pretratamiento con una bacteria pectinolítica como *Erwinia herbicola* en asocio con la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

Krshnamoorthy y Deepak, citados por Cabrera *et al.* (5), reportan valores entre 3 a 4 g de etanol por cada 100 ml de mucílago, equivalente entre 38 y 51 ml de etanol por cada litro de mucílago. Loke *et al.* (14), utilizando el mucílago de café para la producción de bioetanol adicionando 1% de levadura y fermentando a 35°C, encontraron rendimientos del 5%, equivalente a 50 ml de etanol por cada litro de mucílago fresco.

En enero de 2005, Colombia comenzó a mezclar la gasolina con 10% de alcohol carburante extraído de la caña de azúcar, y planea aumentar gradualmente ese porcentaje hasta llegar al 25% en 20 años. Hasta ahora, el millón de litros diarios de alcohol carburante que se genera en los cinco ingenios del Valle, sólo abastece a Bogotá y al Sur y Occidente del país, pero deberá elevarse en 500.000 litros más para cubrir otras regiones (18).

El propósito de la investigación fue determinar los rendimientos de producción de etanol a partir del mucílago obtenido durante el proceso de beneficio del fruto de café variedad Colombia, y determinar su potencial para la producción de bioetanol de segunda generación, de forma que se contribuya a diversificar la matriz energética nacional.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en el laboratorio de Biodigestión de la Disciplina de Calidad y Manejo Ambiental de Cenicafé, en La Granja, a una altitud de 1.310 m (12).

Los materiales utilizados fueron:

Mucílago de café. Obtenido del beneficio de 150 kg de café cereza, variedad Colombia, sin seleccionar, en un equipo Becolsub 300, dotado de un desmucilaginador mecánico operado con un caudal de agua de 550 ml/min.

Microorganismos. Se emplearon tres cepas comerciales de *Saccharomyces cerevisiae* Prensada 1 (P1), Prensada 2 (P2) y seca (S), y una enzima comercial pectinolítica (EP). Las dos levaduras prensadas correspondieron a dos marcas comerciales que existen en el mercado.

Tratamientos. Se evaluaron 16 tratamientos, cuatro tipos de hidrólisis (natural, ácida, alcalina y enzimática) y cuatro tipos de inóculo (natural, levadura prensada 1, levadura prensada 2 y levadura seca).

Unidad experimental. Estuvo conformada por una muestra de mucílago fresco de 1 L. Cada tratamiento estuvo constituido por seis unidades experimentales. Las unidades experimentales se asignaron a los tratamientos con mucílago, de acuerdo con el diseño experimental completamente aleatorio, en arreglo factorial 4 x 4.

Como hipótesis de trabajo se estableció: “Con la hidrólisis enzimática del mucílago del café seguida de una fermentación con adición de levaduras se obtienen rendimientos de etanol superiores a 50 ml/L de mucílago”.

Condiciones de proceso:

- Se utilizó mucílago fresco, con menos de 2 horas de obtenido.
- La hidrólisis ácida se realizó con ácido sulfúrico, a una concentración de 0,2 mol. L⁻¹ (equivalente a 11 ml.L⁻¹ de mucílago), y se adicionó Na₂SO₃ al 1,5% p/v (15 g.L⁻¹ de mucílago), de acuerdo a lo reportado por Rodríguez (22). Posteriormente, la muestra se introdujo en un autoclave a 121°C, durante 20 min, de acuerdo a lo reportado por Yu y Zhang (29).
- La hidrólisis alcalina se realizó con hidróxido de sodio al 32%, a una concentración de 0,25% peso/volumen (se adicionaron 7,8 ml.L⁻¹ de mucílago), y con Na₂SO₃ al 0,75% peso/volumen (se adicionaron 7,5 g.L⁻¹ de mucílago), de acuerdo a lo reportado por Rodríguez (22). El mucílago se calentó a temperatura de ebullición, durante 60 min, de acuerdo a lo registrado por Domenech (9).
- La hidrólisis enzimática se realizó adicionando 1 ml de enzima pectinolítica por cada litro de mucílago (concentración final de 1.200 ppm), de acuerdo a las recomendaciones de la casa fabricante, con un pH recomendado en el rango 4,5 a 5,5 y durante 60 minutos se sometió a una temperatura de 75°C, luego se dejó a temperatura ambiente, durante 8 horas (25).
- Finalizada la etapa de hidrólisis, el pH se ajustó a un valor de 5,0 ± 0,5 (10) utilizando ácido sulfúrico o hidróxido de sodio, y se adicionaron las cepas de

levadura a una proporción de 2,5% p/v, para las levaduras prensadas (25), y del 1% p/v para la levadura seca (recomendación de la casa fabricante), a una temperatura de incubación de 30°C (10).

- En el proceso de destilación se adicionó aceite vegetal al 0,1% v/v, como antiespumante.
- La agitación de las unidades experimentales fue manual, seis veces al día (25).
- El tiempo de fermentación alcohólica se fijó en 15 horas (25).

Beneficio del café cereza. Se utilizaron muestras de 150 kg de café cereza variedad Colombia sin seleccionar, proveniente de la Estación Central Naranjal. Una vez recibido el café cereza, inmediatamente se inició el proceso de beneficio, y el mucílago obtenido se tamizó a través de una malla mosquitera para eliminar pulpa, cascarilla y granos presentes en el mismo.

Fermentación alcohólica. Al mucílago se le determinaron los grados Brix, Gravedad Específica (GE) y pH, de acuerdo con la metodología reportada por Ríos (19), y para aquellos tratamientos que lo requerían, se realizó la hidrólisis de los compuestos pécticos y se ajustó el pH (cuando se requirió). De las muestras se transvasaron 950 ml en balones de vidrio, mientras que los 50 ml restantes se utilizaron para aclimatar la levadura a la temperatura de fermentación. Luego, se adicionó el inóculo al balón y se homogeneizó con la ayuda de un agitador mecánico, se taparon los balones con papel de aluminio y se fermentaron las muestras durante 15 horas (Figura 1).

Destilación simple. Al final del proceso de fermentación, se tomaron 50 ml de muestra para análisis (pH, GE y Brix) (19) y los 950 ml restantes se llevaron a un proceso

de destilación simple (Figura 2). Al destilado se le determinó el grado alcohólico, con la ayuda de un hidrómetro, el cual proporciona el valor del contenido de alcohol en porcentaje volumen/volumen, de acuerdo con el método 957.03 de la AOAC (1).

Con el volumen del destilado y los grados alcohólicos se determinó la cantidad de alcohol obtenido en el proceso de fermentación, por cada litro de la solución agua-mucílago.



Figura 1. Fermentación alcohólica del mucílago.



Figura 2. Destilación simple del fermentado.

Rectificación del alcohol. Las muestras provenientes de la destilación simple, se reunieron por tratamiento, y se llevaron a procesos de rectificación, utilizando inicialmente una columna Vigreux de 40 mm de diámetro y 50 cm de longitud, y posteriormente en una columna empacada con anillos Rashing.

Deshidratación del alcohol. Los destilados de la rectificación se pasaron por tamices moleculares, con un tamaño de 4A° para obtener el alcohol deshidratado (Figura 3).

Determinación del contenido de etanol. Para la determinación del contenido de etanol en las muestras rectificadas y deshidratadas se utilizó el método del hidrómetro (Figura 4) y se comparó con el método del picnómetro (Método 942.06 de la AOAC) (1). Con los valores de densidad y las Tablas donde se relaciona la densidad de soluciones de etanol saturado de aire y agua según la temperatura (8), basadas en Spieweck y Bettin (24), se determinó el contenido de etanol en porcentaje v/v y luego en porcentaje p/p de



Figura 3. Deshidratación del alcohol.



Figura 4. Determinación del grado alcohólico.

las muestras compuestas de alcohol obtenidas de los diferentes tratamientos evaluados para la solución agua-mucílago.

De igual manera para conocer los compuestos presentes en las muestras de alcohol se utilizó la técnica de la cromatografía gaseosa. El equipo utilizado fue un Cromatógrafo de Gases Hewlett Packard 6850, equipado con detector de ionización de llama (FID). Tipo de Columna: Columna DB624 de 75 metros de longitud, con un diámetro de 530 micras y una película de espesor de 0,3 micras.

Vinazas. Para la caracterización de las vinazas obtenidas en el proceso de destilación se realizaron análisis de pH (método potenciométrico, empleando como sensor un electrodo combinado Referencia InLab 413SG); Sólidos Totales (método gravimétrico) (2) y Demanda Química de Oxígeno (método de reflujo cerrado, método colorimétrico) (13).

Análisis estadístico. La variable respuesta seleccionada fue la producción de alcohol y como variables complementarias se seleccionaron el pH, la gravedad específica y los grados brix. Para cada tratamiento se estimaron el promedio y la desviación estándar, tanto para la variable de respuesta como las complementarias. Se aplicó un análisis de

varianza al 5%, con la variable de respuesta, bajo el diseño experimental propuesto, y se seleccionó la mejor combinación hidrólisis x inóculo fermentativo, de acuerdo con una prueba de contraste al 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Condiciones climáticas. Durante el período en que se realizó la experimentación, las condiciones climáticas fueron: promedio de temperatura de 21,2°C, humedad relativa 81,0%, precipitación 3.090,2 mm y 1.565,6 horas de brillo solar (12).

Beneficio del fruto de café. El promedio, en cinco muestras de café cereza beneficiado, para la solución agua-mucílago proveniente del desmucilagador mecánico, fue el 31,91% del peso del fruto fresco y un promedio de tiempo de beneficio de 40,6 min. Después de pasar la solución agua-mucílago por una malla mosquitera (para retirar material sólido que lo acompañaba), el promedio del peso fue 25,24% del peso del fruto fresco, con un valor medio de 9,66 °Brix, una gravedad específica media de 1,18 y un valor medio de pH de 4,84.

Proceso de destilación. En la Tabla 1 se presentan los valores promedios de alcohol obtenido en la destilación simple de un litro de mucílago procesado, para cada uno de los tratamientos evaluados, junto con su desviación estándar y el coeficiente de variación. Los valores obtenidos se estimaron a partir de la determinación del grado alcohólico del destilado.

No hubo diferencias significativas entre los rendimientos de alcohol obtenidos con las diferentes levaduras evaluadas para los tratamientos sin hidrólisis, para los tratamientos con hidrólisis ácida, para los tratamientos con hidrólisis alcalina y para

Tabla 1. Alcohol obtenido por cada litro de solución agua-mucílago, en los tratamientos evaluados.

Tratamiento	Identificación	Promedio* (ml de alcohol)	Desviación estándar	C.V. (%)
1	Fermentación natural	6,39 e	0,48	7,45
2	Levadura prensada 1	39,94 a	4,79	12,00
3	Levadura prensada 2	40,32 a	4,79	11,89
4	Levadura seca	40,12 a	6,14	15,30
5	Hidrólisis ácida + Fermentación natural	4,50 e	1,97	43,87
6	Hidrólisis ácida + Levadura prensada 1	30,32 bcd	2,36	7,78
7	Hidrólisis ácida + Levadura prensada 2	29,01 cd	2,42	8,33
8	Hidrólisis ácida + Levadura seca	28,25 d	2,52	8,92
9	Hidrólisis alcalina+ Fermentación natural	2,75 e	2,73	99,12
10	Hidrólisis alcalina + Levadura prensada 1	40,78 a	9,89	24,26
11	Hidrólisis alcalina + Levadura prensada 2	34,19 abcd	3,21	9,39
12	Hidrólisis alcalina + Levadura seca	40,48 a	5,94	14,68
13	Hidrólisis enzimática + Fermentación natural	2,93 e	1,59	54,13
14	Hidrólisis enzimática + Levadura prensada 1	37,66 abc	3,45	9,15
15	Hidrólisis enzimática + Levadura prensada 2	38,35 ab	6,85	17,88
16	Hidrólisis enzimática + Levadura seca	39,91 a	3,73	9,34

(*) Valor promedio de seis réplicas. Promedios con la misma letra no presentaron diferencias significativas, según la prueba de Tukey con nivel de significancia del 95%.

los tratamientos con hidrólisis enzimática. Los mayores coeficientes de variación se presentaron para los tratamientos sometidos a hidrólisis y sin inoculación de levaduras, los cuales fueron superiores al 43%, influenciado probablemente, por los tratamientos térmicos a los cuales fueron sometidas las muestras que ocasionaron una disminución en los microorganismos naturales del mucílago. Los demás tratamientos tuvieron coeficientes de variación menores al 25%.

Los promedios generales obtenidos por tipo de hidrólisis y utilización de levaduras comerciales, expresados en ml de alcohol/litro de solución de agua-mucílago fueron de 29,19 ml para la hidrólisis ácida, de 38,48 ml para la hidrólisis alcalina, de 38,64 ml para la hidrólisis enzimática y de 40,13 ml para los tratamientos sin hidrólisis.

En los tratamientos sin adición de levaduras no hubo diferencias significativas en los rendimientos medios de alcohol obtenido

a partir de un litro de la solución agua-mucílago (6,39 ml cuando las muestras no se sometieron a hidrólisis, 4,50 ml cuando las muestras se sometieron a la hidrólisis ácida, 2,75 ml cuando las muestras se sometieron a la hidrólisis alcalina y 2,93 ml cuando las muestras se sometieron a la hidrólisis enzimática), pero sí fueron estadísticamente diferentes de los tratamientos con adición de levaduras comerciales, lo cual era de esperarse, pues todos los tratamientos de hidrólisis estuvieron acompañados de tratamientos térmicos, lo cual disminuye significativamente la cantidad de levaduras naturales presentes en el mucílago.

Se determinó que no se presentan diferencias estadísticas entre los tratamientos sin hidrólisis y los sometidos a hidrólisis alcalina y enzimática, cuando todos ellos se inoculan con levaduras comerciales, mientras que los tratamientos con hidrólisis ácida e inoculación con levaduras comerciales fueron diferentes estadísticamente de los tratamientos sin hidrólisis e inoculados

con levaduras comerciales, con los mayores rendimientos medios en la producción de etanol. Lo anterior se explica considerando la temperatura a la cual se sometieron los tratamientos para la hidrólisis, temperatura ambiente para los tratamientos sin hidrólisis inducida, 75°C para la hidrólisis enzimática, 95°C para la hidrólisis alcalina y 121°C para la hidrólisis ácida, debido a que en esta última temperatura pueden hidrolizarse azúcares reductores como la fructuosa, y a la vez se destruyen los microorganismos naturales presentes en el mucílago, lo que se traduce en menores rendimientos.

Basados en los resultados obtenidos y considerando aspectos técnicos y económicos, se recomienda no realizar hidrólisis al mucílago de café, durante la fermentación alcohólica, así como la utilización de levaduras secas instantáneas, por su mayor vida útil respecto a las prensadas, como inóculo en el proceso de fermentación alcohólica del mucílago de café.

Rectificación del alcohol: Los destilados simples de cada tratamiento se reunieron en dos muestras para su rectificación. En la columna Vigreux se obtuvieron destilados que permitieron recuperar el 89,06% del alcohol presente en los destilados simples (n=33, CV= 11,06%), con colas de contenido alcohólico del 2,1°Gl (n=33, CV= 31,36%); posteriormente, en la columna empacada con anillos Rashing se obtuvieron destilados que permitieron recuperar el 96,85% del alcohol presente en los destilados provenientes de la columna Vigreux (n=36, CV= 2,54%), con colas de contenido alcohólico del 2,7°Gl (n=36, CV= 48,88%). En el proceso de rectificación combinado (Vigreux + Rashing) se recuperó el 86,20% del alcohol sentido por hidrometría en los destilados simples.

El balance de materia global del alcohol permitió calcular, después de analizar los

contenidos alcohólicos en los destilados y colas obtenidos en la etapa de rectificación, una recuperación del 99,49% del alcohol medido (valor promedio de 73 análisis, CV = 8,72%), mediante hidrometría en los destilados simples, de esta manera se comprobó la confiabilidad en esta técnica para evaluar el contenido alcohólico.

Determinación del contenido de etanol:

En la Tabla 2 se presentan los resultados de la densidad, porcentaje en volumen de etanol en la solución alcohólica y porcentaje en peso de etanol en la solución alcohólica, para las muestras de alcohol rectificadas y deshidratadas. En promedio, el 98,40% (n = 13; CV = 1,98%) del alcohol evaluado por hidrometría correspondió a etanol. En los tratamientos 5, 9 y 13, sometidos a hidrólisis ácida, alcalina y enzimática, respectivamente, y sin inoculación con levaduras comerciales, no se detectó presencia de alcohol en los destilados obtenidos.

Las muestras de alcohol obtenido por cada tratamiento, después de la deshidratación, se caracterizaron por la técnica de cromatografía de gases para identificar los compuestos presentes en las mismas (Tabla 3).

El promedio de etanol encontrado, por la técnica del picnómetro, fue de 93,65% v/v (n = 13; CV = 4,06%) y de 90,72% p/p (n = 13; CV = 5,89%), mientras que por la técnica cromatográfica fue de 97,74% p/p (n = 13; CV = 1,08%).

Lo anterior muestra que la técnica de la gravedad específica permitió determinar el contenido de etanol en la muestra alcohólica, con un error medio, al compararla con la técnica cromatográfica, menor al 7,7%.

Los análisis cromatográficos mostraron como principales compuestos asociados al etanol, en orden de importancia, el metanol,

Tabla 2. Contenido de etanol en muestras rectificadas y deshidratadas provenientes del mucílago de café.

Tmto.	Identificación	Grado Alcohólico (°Gl)	Densidad (A 15°C) (g/L)	Porcentaje de etanol (v/v)	Porcentaje de etanol (p/p)
T1	Fermentación natural	97,0	816,05	95,2	92,7
T2	Levadura prensada 1	100,0	802,63	98,6	97,7
T3	Levadura prensada 2	100,0	800,13	99,2	98,7
T4	Levadura seca	100,0	801,70	98,8	98,1
T6	Hidrólisis ácida + Levadura prensada 1	94,5	830,65	91,0	87,0
T7	Hidrólisis ácida + Levadura prensada 2	92,0	838,02	88,7	84,0
T8	Hidrólisis ácida + Levadura seca	93,0	834,73	89,7	85,3
T10	Hidrólisis alcalina + Levadura prensada 1	90,0	832,64	90,4	86,2
T11	Hidrólisis alcalina + Levadura prensada 2	90,5	821,89	93,6	90,4
T12	Hidrólisis alcalina + Levadura seca	92,5	834,29	89,9	85,5
T14	Hidrólisis enzimática + Levadura prensada 1	94,0	827,98	91,8	88,0
T15	Hidrólisis enzimática + Levadura prensada 2	94,0	823,77	93,1	89,8
T16	Hidrólisis enzimática + Levadura seca	99,8	807,75	97,4	95,9
			Promedio	93,65	90,72
			Desv. Est.	3,81	5,34
			C.V. (%)	4,06	5,89

que tuvo porcentajes mayores al 3% cuando las muestras no se hidrolizaron y cuando no se inocularon con levaduras comerciales. El metanol tuvo porcentajes menores al 1%, cuando no se realizó la hidrólisis del mucílago y también cuando se realizó la hidrólisis alcalina, y en ambos casos, se adicionaron levaduras comerciales y entre el 1% y 2%, cuando se realizó la hidrólisis ácida y enzimática, ambas con la adición de las levaduras comerciales.

Además, se registró el etilacetato y el isobutanol (en valores menores al 1%), cuando las muestras no se hidrolizaron y tampoco se inocularon con levaduras comerciales. La adición de levaduras comerciales en los tratamientos sin hidrólisis, permitió incrementar los contenidos de etanol. Para estos tratamientos los contenidos de isobutanol, propanol, etilacetato y alcohol isoamílico, mostraron valores menores al 1%. La hidrólisis ácida favoreció la formación de acetaldehído en valores cercanos al 1%. Los contenidos de

etilacetato, isobutanol y alcohol isoamílico, fueron menores al 1%. La hidrólisis alcalina favoreció la formación de acetaldehído, isobutanol, alcohol isoamílico y propanol con valores menores al 1%; mientras que la hidrólisis enzimática favoreció la formación de isobutanol, alcohol isoamílico y propanol con valores menores al 1%.

El metanol se produce por la desmetilación enzimática de las pectinas presentes en el mucílago de café, cuyo contenido en base seca está alrededor del 10%, por lo que se favorece la producción de este alcohol. El butanol se produce por la fermentación de azúcares por acción de microorganismos como *Clostridium acetobutylicum* y *Escherichia coli*, esta última se ha encontrado de forma natural en el mucílago de café (4). El etilacetato se forma por la acción de levaduras diferentes a *Saccharomyces*, y que forman parte de los microorganismos presentes de forma natural en el mucílago (*Candida* sp., *Rhodotorula* sp., *Toruplosis* sp.) (4), cuya acción se inhibe

Tabla 3. Análisis cromatográfico del alcohol obtenido a partir de mucilago de café.

Compuesto	Mucilago sin hidrólisis				Hidrólisis ácida		
	Fermentación natural	Levadura prensada 1	Levadura prensada 2	Levadura seca	Levadura prensada 1	Levadura prensada 2	Levadura seca
	mg/L alcohol anhidro				mg/L alcohol anhidro		
Acetaldehído	796,5	221,2	96,3	450,7	5323,7	14.240,4	10.846,1
Metanol	32.731,7	8.836,9	8.013,2	9.907,6	14.266,9	16.916,3	16.736,6
Isopropanol	28,3	5,8	4,1	6,8	20,3	33,5	185,9
Propanol	9,3	9,9	663,2	912,0	66,1	89,2	186,9
EtilAcetato	5.066,5	387,8	296,6	684,8	423,2	975,7	1.027,6
2-Butanol	15,0	3,6	3,5	3,9	8,3	0,00	4,6
Isobutanol	1.177,9	565,8	572,6	1.299,0	5,3	164,1	1.198,9
Butanol	19,2	3,1	6,7	17,0	18,2	7,7	11,7
Isoamílico 1	776,3	155,9	134,6	893,6	1.294,5	206,6	478,4
Isoamílico 2	194,5	38,6	42,4	229,7	234,6	61,7	88,5
IsoAmilAcetato	0,00	0,00	0,00	0,0	0,00	0,00	0,00
Furfural	0,00	0,00	0,00	0,0	0,00	0,00	0,00
Porcentaje etanol	95,48	98,79	98,81	98,21	97,48	96,32	96,46
Alcoholes superiores	2.220,5	782,7	1.427,00	3.362,0	1.647,2	562,7	2.154,9
Ésteres	5.066,5	387,8	296,60	684,8	423,2	975,7	1.027,6
Otros congéneres	796,5	221,2	96,3	450,7	5.323,7	14.240,4	1.0846,1

Compuesto	Hidrólisis alcalina			Hidrólisis enzimática		
	Levadura prensada 1	Levadura prensada 2	Levadura seca	Levadura prensada 1	Levadura prensada 2	Levadura seca
	mg/L alcohol anhidro			mg/L alcohol anhidro		
Acetaldehído	3.309,1	2.722,30	3.799,1	470,9	53,2	138,3
Metanol	3.479,9	3.825,20	4.109,1	10.782,1	17.075,8	8.161,5
Isopropanol	98,1	76,3	64,6	8,8	6,1	0,0
Propanol	685,6	694,4	836,1	663,6	888,8	1.065,4
EtilAcetato	668,5	361,5	306,8	624,5	102,2	48,8
2-Butanol	6,4	3,8	1,3	7,3	4,5	4,9
Isobutanol	2.202,4	1797,4	2.059,1	1.238,0	1.333,1	8.797,4
Butanol	7,8	7,1	6,9	7,0	12,8	87,1
Isoamílico 1	1.687,9	880,0	897,7	1.134,1	1.654,5	1.599,3
Isoamílico 2	466,0	207,4	292,6	239,9	328,7	447,4
IsoAmilAcetato	0,00	0,0	0,0	0,00	0,00	0,00
Furfural	0,00	0,0	0,0	0,00	0,00	0,00
Porcentaje etanol	98,33	98,62	98,39	98,13	97,37	98,25
Alcoholes superiores	5.154,3	3.666,5	4.158,3	3.298,6	4.228,6	4.931,4
Ésteres	668,5	361,5	306,8	624,5	102,2	48,8
Otros congéneres	3.309,1	2.722,30	3.799,1	470,9	53,2	138,3

cuando la concentración de etanol en el fermentado es mayor al 5% (11).

El propanol, isobutanol y alcohol isoamílico, forman parte del denominado aceite de fusel o también llamado alcohol de fusel, por estar formado por alcoholes con más de dos átomos de carbono; su formación durante la fermentación de los azúcares depende del tipo de microorganismo utilizado en la fermentación, la cantidad de nitrógeno presente en el sustrato puesto a fermentar y el pH, la temperatura y el grado de agitación durante la etapa de fermentación. Valores de temperatura por encima del considerado óptimo, para el microorganismo utilizado en la fermentación, y valores de pH por debajo del óptimo, favorecen la producción de estos congéneres.

Valor experimental de producción de alcohol a partir del mucílago. Para los tratamientos sin hidrólisis e inoculación con levaduras comerciales se registró un valor promedio de rendimiento de 40,13 ml de alcohol/litro de la solución de mucílago ($n = 18$; $CV = 12,37\%$), un valor promedio de densidad en la solución mucílago + agua de 1,18 g/ml ($n = 5$; $CV = 5,84\%$), y un porcentaje en peso de mucílago + agua respecto al fruto fresco del 25,24% ($n = 5$; $CV = 8,85\%$), con estos valores y teniendo en cuenta el valor calculado a partir de la información encontrada por Montilla (17), en donde el mucílago fresco sin agua representó el 14,85%, del peso del fruto fresco, se obtiene un valor de densidad del mucílago puro de 1,35 g.ml⁻¹. Esto significa que a partir de una tonelada de mucílago fresco puro, proveniente de café sin selección, se podrían obtener 57,90 L de alcohol, con un contenido de etanol del 98,60%, para un total de 57,08 L de etanol. La obtención de etanol anhidro a partir de la caña de azúcar está alrededor de 75 a 80 L.t⁻¹ de caña (27).

Valor teórico de producción de etanol a partir del mucílago. De acuerdo con los análisis de Rodríguez (22), el 64,31% de la materia seca del mucílago son azúcares reductores. Si se consideran las relaciones estequiométricas, se tiene que una mol de glucosa produce dos moles de etanol (16). Considerando la información generada por Zambrano (30), donde 1 kg de café cereza sin seleccionar genera 91 ml de mucílago fresco, y la obtenida de Montilla (17), donde por cada kilogramo de café cereza se generan 148,5 g de mucílago, se tendría que a partir de 1 kg de mucílago fresco, proveniente de café sin selección, se podrían obtener 55,5 ml de etanol.

Krshnamoorty y Deepak, citados por Cabrera *et al.* (5), reportan valores entre 3 a 4 g de etanol producido a partir de 100 ml de mucílago, equivalentes entre 38 y 51 ml de etanol por cada litro de mucílago.

Zambrano (30), para la descomposición anaerobia del mucílago, reporta una producción de 336 L de metano por cada kilogramo de DQO removido en el proceso de fermentación, a 36°C, por lo que se puede estimar que la energía contenida en el biogás generado a partir de la descomposición de 1 kg de mucílago fresco es del orden de 2,0 MJ. La energía contenida en el etanol obtenido de la fermentación alcohólica de 1 kg de mucílago fresco es del orden de 1,2 MJ.

Para que el balance energético de la producción de etanol, a partir del mucílago de café sea positivo, es necesario tratar las vinazas generadas en el proceso de elaboración, mediante digestión anaerobia y utilizar el metano generado como combustible para el proceso.

Vinazas del proceso de destilación del alcohol de mucílago. En la Tabla 4 se presentan los resultados relacionados con

la caracterización de las vinazas (volumen, pH, Demanda Química de Oxígeno y Sólidos Totales) obtenidas del proceso de destilación simple de las diferentes muestras de mucílago fermentado para los tratamientos sin hidrólisis.

De los resultados obtenidos puede concluirse que la mayor carga orgánica, expresada como Demanda Química de Oxígeno (DQO), se presentó para las vinazas provenientes del proceso de destilación del mucílago fermentado sin la adición de levaduras comerciales, lo cual se explica por la presencia en el fermentado, de compuestos con puntos de ebullición mayores a los del etanol, dado que la concentración de levaduras presentes en este tratamiento fue inferior a la presente en los tratamientos inoculados con levaduras comerciales.

Para los tratamientos sin hidrólisis y adición de levaduras comerciales las vinazas representaron el 44,42% del volumen inicial de las muestras fermentadas, con un pH medio de 4,58, un valor medio de sólidos totales de 101.258 ppm y una DQO media de 119.689 ppm.

De acuerdo con los datos encontrados puede obtenerse 1 L de etanol a partir de 25 L de la solución agua-mucílago fermentado, generándose 11 L de vinazas, las cuales deben tratarse por digestión anaerobia, con el fin de disminuir el impacto ambiental que éstas ocasionarían sobre los recursos naturales, generándose en el proceso otro biocombustible aprovechable: el biogás.

Los mejores tratamientos para la obtención de etanol a partir del mucílago de café fueron los que no se sometieron a hidrólisis y se inocularon con levaduras comerciales, entre los que no se encontraron diferencias estadísticas, permitiendo alcanzar, por cada kilogramo de mucílago sin diluir, rendimientos medios de 57,08 ml de etanol, seguido de los tratamientos sometidos a hidrólisis alcalina (rendimientos medios de 54,65 ml de etanol) y de los tratamientos sometidos a hidrólisis enzimática (rendimientos medios de 54,58 ml de etanol), que permitieron cumplir con la hipótesis de trabajo propuesta. Entre los anteriores tratamientos no se presentaron diferencias estadísticas, por lo que por

Tabla 4. Caracterización de las vinazas obtenidas del proceso de destilación de 0,95 L de mucílago fermentado sin hidrólisis.

Tratamiento	Parámetro	Volumen final (ml)	pH (unidades)	Sólidos Totales (ppm)	DQO (ppm)
	Promedio	408	3,80	108.766	168.650
Mucílago sin adición de levaduras	Desv. Est.	30,70	0,09	11.091	47.614
	CV (%)	7,52	2,31	10,20	28,23
	Datos	8	8	8	8
	Promedio	422	4,58	101.258	119.689
Mucílago con levaduras comerciales	Desv. Est.	77,00	0,34	18.308	25.407
	CV (%)	18,23	7,38	18,08	21,23
	Datos	32	32	32	32

facilidades de proceso y costos se recomienda utilizar el mucílago sin hidrólisis e inocularlo con levaduras secas, por la facilidad de manipulación y la mayor vida útil de éstas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a Eliécer Ortega de la Industria Licorera de Caldas, por la realización de los análisis cromatográficos; a la doctora Esther Cecilia Montoya de la Disciplina de Biometría de Cenicafé, por la asesoría estadística, y a la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, por el apoyo económico para la realización de la investigación QIN0806 “Producción de alcohol carburante a partir del mucílago de café”.

LITERATURA CITADA

1. AOAC. INTERNATIONAL. Official Methods of analysis. 16th Edition. Gaithersburg. USA. 1997. 2v (sp).
2. APHA, AWWA, WPCF. Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. Madrid (España), Ediciones Díaz de Santos. 1992. 1914 p.
3. BALLESTEROS P., M. Seminario Internacional sobre aprovechamiento de residuos agroindustriales. Uso energético de la biomasa. Universidad Nacional Sede Manizales. Manizales. Mayo 19 al 21. 1998.
4. BLANDÓN, G.; RODRÍGUEZ, N.; DÁVILA, M. T. Caracterización microbiológica y fisico-química de los subproductos del beneficio del café en proceso de compostaje. *Cenicafé* 49(3):169-185. 1998.
5. CABRERA, S. DE; CALZADA, J.F.; GIL, L.A.; ARRIOLA, M.C. DE. Etanol de cerezas y mucílago de café. In: SIMPOSIO Internacional sobre la Utilización Integral de los Subproductos del Café, 3. Guatemala, Febrero 16-18, 1987. Guatemala, ICAITI-ANACAFÉ-PNUMA, 1987. p. 129-137.17 Refs. Esp.
6. CALLE V., H. Subproductos del café. Chinchiná (Colombia). *Cenicafé*. 1977. 84 p. (Boletín Técnico N° 6).
7. CALLE V., H. Producción de alcohol con los desperdicios del café. *Cenicafé* 2(22):33-34. 1951.
8. CENTRO DE ESTUDIOS DE MEDICIÓN Y CERTIFICACIÓN DE CALIDAD, CESMEC S.A. Tablas de densidad de soluciones etanol-agua. On line. Internet. Disponible en: http://www.cesmec.cl/medios/Metrologia/concentracion_densidad_etanol.xls. Fecha de consulta: Octubre del 2007.
9. DOMENECH L., F. Alcohol a partir de residuos lignocelulósicos. Estado actual y perspectivas. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar. ICIDCA. La Habana, Cuba. Seminario de Alcohol. 2001. Memorias.
10. EL-REFAI, A. H.; EL-ABYAD, M. S.; EL-DIWANY, A. I.; SALLAM, L. A.; ALLAM, R. Some physiological parameters for ethanol production from beet molasses by *Saccharomyces cerevisiae* Y-7. *Bioresource Technology*, Volume 42, Issue 3, 1992, Pages 183-189.
11. ESTELA-ESCALANTE, W.; RYCHTERA, M.; MELZUCH, K.; HATTA-SAKODA, B.; LUDEÑA-CERVANTES, Z.; SARMIENTO-CASAVILCA, V.; CHAQUILLA-QUILCA, G. Actividad fermentativa de *Saccharomyces ludwigii* y evaluación de la síntesis de compuestos de importancia sensorial durante la fermentación de jugo de manzana. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 14(1):12-23, 2011
12. FEDERACIÓN NACIONAL DE CAFETEROS DE COLOMBIA. CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ. CENICAFÉ. Anuario Meteorológico Cafetero 2007. Chinchiná (Colombia), CENICAFÉ. 2009. 568 p.
13. HACH COMPANY. DR/2000 Spectrophotometer. Procedures Manual. Loveland, Colorado, USA. 1988. 394 p.
14. LOKE, J.; ÁLVAREZ, E.; GONZÁLEZ, S.; OSPINA, B.; CARDONA, J.; DE LOS RÍOS, D.; LÓPEZ, R. N.; GALEMA, T.; LLANO, D.; LLANO, G.; PABÓN, C.; VAN ECK, R. Innovación en la Producción de Combustibles Biológicos: Crear Acceso para Asociaciones de Agricultores a Mercados Ilimitados. In: X Congreso Colombiano de Ingeniería Agrícola y carreras afines. Universidad Surcolombiana. Neiva. Memorias. Noviembre del 2006.
15. GARAVITO, A.; PUERTA, G. I. Utilización del mucílago de café en la alimentación de cerdos. *Cenicafé* 49(3):231-256. 1998.

16. GARCÍA C., J. M.; GARCÍA L., J. A. Biocarburantes líquidos: biodiésel y bioetanol. Informe de vigilancia tecnológica 4. Madrid. España. 2007. 122 p.
17. MONTILLAP, J. Caracterización de algunas propiedades físicas y factores de conversión del café. Manizales (Colombia), Universidad de Caldas. Facultad de Ciencias Agropecuarias. 2006. 107 p. (Tesis: Ingeniería Agrónoma).
18. REY, G. H. A la cosecha del sol. On line Internet. Disponible en: <http://www.ipsnoticias.net/nota.asp?idnews=39017>. (Fecha de consulta: 27 de octubre del 2006).
19. RÍOS A., S. Manual de Análisis Químico del Mucilago del Café. Disciplina de Química Industrial. Cenicafé. Chinchina. 56 p. 1995. (Mecanografiado).
20. ROA, G.; OLIVEROS, C.E.; ÁLVAREZ, J.; RAMÍREZ, C.A.; SANZ, J.R.; DÁVILA, M.T.; ÁLVAREZ, J.R.; ZAMBRANO, D.A.; PUERTA, G.I.; RODRÍGUEZ, N. Beneficio Ecológico del café. Chinchiná (Colombia), CENICAFÉ. 1999. 300 p.
21. RODRÍGUEZ V., N. Balance energético en la producción de etanol a partir de la pulpa y el mucilago de café y poder calorífico de los subproductos del proceso del cultivo de café. Chinchiná (Colombia), CENICAFÉ. Disciplina de Calidad y Manejo Ambiental. 2007. 7 p.
22. RODRÍGUEZ V., N. Avances del Experimento QIN-08-02. Obtención de pectinas a partir de la pulpa y el mucilago del café. In: Informe anual de actividades 1998-1999. Chinchiná (Colombia), Cenicafé. Disciplina de Química Industrial, 1999. (Mecanografiado). 90 p.
23. RODRÍGUEZ V., N.; ZAMBRANO F., D.A. Los subproductos del café: Fuente de energía renovable. Chinchiná. CENICAFÉ, 2010. 8 p. (Avances Técnicos No. 393).
24. SPIEWECK, F.; BETTIN, H.; Review: Solid and liquid density determination. *Technisches Messen* 59. pp 285 – 292. 1992.
25. VALDÉS D., B.E. Productos de la fermentación de plátano maduro; etanol y una bebida alcohólica; informe final del experimento. Chinchiná (Colombia), Cenicafé, 2001. 95 p.
26. VALENCIA A., G.; CALLE V., H. La miel de café y su composición. *Cenicafé (Colombia)* 19(4):135-139. 1968.
27. VIVAS P., A. L. Construcción y gestión para un proyecto de alcohol carburante. .II Seminario Internacional de Alcohol Carburante. Asocaña. Cali. julio del 2006. Memorias.
28. WILBAUX, R. Coffee processing. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome (Italy). 1963. 287 p.
29. YU, Z.; ZHANG, H. Ethanol fermentation of acid-hydrolyzed cellulosic pyrolysate with *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioresource Technology* Volume 93, Issue 2, June 2004, Pages 199-204.
30. ZAMBRANO F., D. A. Estudios de planta piloto para el tratamiento anaeróbico de las aguas residuales del proceso de beneficio húmedo del café. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Chinchiná, Cenicafé, 1994. (Proyecto QIN-02-00).
31. ZAMBRANO F., D.A.; ISAZA H., J. D. Lavado del café en los tanques de fermentación. *Revista Cenicafé* 45(3):106-118. 1994.
32. ZAMBRANO F., D. A.; RODRÍGUEZ V., N.; LÓPEZ P., U.; OROZCO R., P. A.; ZAMBRANO G., A.J. Tratamiento anaerobio de las aguas mieles del café. Chinchiná, CENICAFÉ. 2006. 28 p. (Boletín Técnico N° 29).