

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO**  
**OFICINA DE INVESTIGACIÓN**  
**CONCURSO DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN 2014**



**INFORME FINAL**

***“APROVECHAMIENTO SISTÉMICO DE LA PULPA DE CAFÉ  
COMO RESIDUO AGRÍCOLA Y TRATAMIENTO DE LAS AGUAS  
MIELES POR BIORREMEDIACIÓN EN EL ALTO MAYO” - 2014***

**PRESENTADO POR EL EQUIPO DE INVESTIGACIÓN**

<b>Ing. MSc</b>	<b>YRWIN FRANCISCO AZABACHE LIZA</b>
<b>Blgo. MSc</b>	<b>ASTRIHT RUÍZ RÍOS</b>
<b>Blgo. MSc</b>	<b>LUIS EDUARDO RODRÍGUEZ PÉREZ</b>
<b>Blgo. MSc</b>	<b>ALFREDO IBAN DÍAZ VISITACIÓN</b>

**TARAPOTO - PERÚ**  
**2014**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO**  
**OFICINA DE INVESTIGACIÓN**  
**CONCURSO DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN 2014**



**INFORME FINAL**

***“APROVECHAMIENTO SISTÉMICO DE LA PULPA DE CAFÉ  
COMO RESIDUO AGRÍCOLA Y TRATAMIENTO DE LAS AGUAS  
MIELES POR BIORREMEDIACIÓN EN EL ALTO MAYO” - 2014***

PRESENTADO POR EL EQUIPO DE INVESTIGACIÓN:

Ing. MSc.	YRWIN FRANCISCO AZABACHE LIZA
Blgo. MSc	ASTRIHT RUÍZ RÍOS
Blgo. MSc	LUIS EDUARDO RODRÍGUEZ PÉREZ.
Blgo. MSc	ALFREDO IBAN DÍAZ VISITACIÓN

Tarapoto - Perú

2014

## **Agradecimiento**

Nuestro más sincero agradecimiento a la Universidad Nacional de San Martín por habernos brindado la oportunidad de desarrollar el presente trabajo de investigación el mismo que aportara al cuidado y conservación del ambiente asimismo el aprovechamiento de los residuos de café por la comunidad.

Así mismo hacemos extensivo nuestro agradecimiento a los caficultores por brindarnos su apoyo e interés de conocer mejor el aprovechamiento de la pulpa de café como residuo agrícola que de una u otra manera contamina el ambiente.

## Índice

<b>I. Resumen</b>	6
Abstract	7
<b>II. Introducción</b>	8
<b>III. Materiales y Métodos</b>	10
<b>3.1 Producción de bioetanol a partir de los ART extraídos de la pulpa de <i>Coffea arábica</i> “Café”</b>	10
Secado y Molienda del Café	10
Secado	10
Molienda	10
Extracción y Determinación de los Azúcares	10
Construcción e Instalación de los Biorreactores	10
Fermentación de Azúcares	10
Medición de Producción de Bioetanol	11
<b>3.2 Extracción de polifenoles</b>	11
Reactivos	11
Procedimiento	11
Validación:	12
1. La linealidad:	12
2. Límite de detección	12
3. Límite de cuantificación	13
3.1 Repetibilidad:	13
4. Exactitud	14
5. Robustez	14
<b>3.3 Sistema de tratamiento de aguas mieles</b>	15
Métodos de análisis	16
Límites Máximos Permisibles de aguas residuales	16
Eficiencia del sistema de tratamiento de aguas mieles	17

<b>IV. Resultados y Discusión</b>	<b>20</b>
<b>4.1 Obtención de bioetanol a partir de azúcares reductores totales (ART) extraídos a partir de pulpa seca de <i>Coffea arábica</i></b>	<b>18</b>
<b>4.2 Obtención de compost</b>	<b>19</b>
<b>4.3 Obtención de polifenoles</b>	<b>20</b>
<b>4.4 Biorremediación por el sistema de tratamiento de aguas mieles</b>	<b>22</b>
<b>4.4.1 Parámetros de las aguas mieles a los 2 días en el sistema de tratamiento:</b>	<b>22</b>
<b>4.4.2 Parámetros de las aguas mieles a los 5 días en el sistema de tratamiento</b>	<b>23</b>
<b>4.4.3 Evaluación de la eficiencia del sistema de tratamiento de aguas mieles</b>	<b>28</b>
<b>V. Conclusiones</b>	<b>35</b>
<b>VI. Recomendaciones</b>	<b>36</b>
<b>VII. Referencias Bibliográficas</b>	<b>37</b>
<b>Anexos</b>	<b>39</b>

## **Lista de siglas y abreviaturas**

AR	Aguas residuales.
ART	Azucares Reductores Totales
°C	Temperatura en grados Celsius.
DBO	Demanda bioquímica de oxígeno
DQO	Demanda química de oxígeno.
L/día	Litros por día.
L/s	Litros por segundo.
ME	Microorganismos eficientes
mg/g	Miligramos por gramo
mg/L	Miligramos por litro.
mg/kg	Miligramos por kilogramo
pH	Potencial de hidrógeno.
ppm	Partes por millón.
S.S.T	Solidos Totales Suspendidos

## Lista de tablas y figuras

Tabla N° 01	La linealidad
Tabla N° 02	Repetibilidad
Tabla N° 03	Exactitud
Tabla N° 04	Robustez
Tabla N° 05	Obtención de bioetanol a partir de azúcares reductores totales (ART) extraídos a partir de pulpa seca de <i>coffea arábica</i>
Tabla N° 06	Obtención de compost
Tabla N° 07	Obtención de polifenoles
Tabla N° 08	Análisis de parámetros físicos –químicos a los 2 días
Tabla N° 09	Análisis de parámetros físicos –químicos a los 5 días
Tabla N° 10	Evaluación de la eficiencia del sistema de tratamiento de aguas mieles
Cuadro N° 01	Parámetros físicos y químicos
Cuadro N° 02	Límites Máximos Permisibles de aguas residuales
Figura N° 01	Sistema de Tratamiento de aguas mieles
Grafico N° 01	Resultados de análisis de agua residual parámetro BDO <sub>5</sub>
Grafico N° 02	Resultados de análisis de agua residual parámetro BQO
Grafico N° 03	Resultados de análisis de agua residual parámetro STS
Grafico N° 04	Resultados de análisis de agua residual parámetro pH
Grafico N° 05	Resultados de análisis de agua residual parámetro temperatura
Grafico N° 06	Resultados de análisis de agua residual parámetro nitratos
Gráfico N° 07	Eficiencia de Remoción de Turbiedad
Gráfico N° 08	Eficiencia de sólidos totales suspendidos
Gráfico N° 09	Eficiencia de DBO
Gráfico N° 10	Eficiencia de DQO
Gráfico N° 11	Eficiencia de fosfatos
Gráfico N° 12	Eficiencia de nitratos

## I. RESUMEN

La primera fase consistió en extraer azúcares reductores y no reductores así como de taninos. Mediante los procesos de fermentación anaerobia en un biorreactor tipo BATCH con agitador, para la obtención de alcoholes. La segunda fase se dirigió al tratamiento de aguas mieles, se utilizó un modelo de biorremediación utilizando los microorganismos eficaces (ME) y macrofitas acuáticas.

Bajo las condiciones de estudio se obtuvieron 18,8 g de Azúcares Reductores Totales por litro a partir de la pulpa seca y 2,0 % de bioetanol por cada litro de mosto. Se obtuvo Ácido Gálico como principal y más abundante de los polifenoles en una concentración de 4555,2 mg/kg de pulpa seca. Respecto al tratamiento de aguas mieles los resultados de DBO y DQO disminuyeron, no llegando por debajo de los LMP, los STS se logró disminuir por debajo de los LMP, el pH están dentro del rango de los LMP, la temperatura está por debajo de los LMP, al igual que los nitratos.

De esta manera se pudo concluir que es posible, por un lado utilizar y transformar los residuos agrícolas de café para darle valor agregado de manera integral, y por otro lado disminuir los impactos negativos que genera sobre el ambiente las aguas mieles.

Palabras claves: pulpa de café, degradación biológica

## ABSTRACT

The first phase consisted of removing and reducing non-reducing sugars and tannins. By anaerobic fermentation processes in a bioreactor BATCH type agitator, for preparing alcohols. The second phase addressed the honey water treatment; bioremediation using a model of effective microorganisms (EM) and aquatic macrophytes was used.

Under the study conditions 18.8 g of reducing sugars per liter Totals were obtained from the dried pulp and 2.0% bioethanol per liter of wine. Gallic acid was obtained as primary and most abundant polyphenols in a concentration of 4555.2 mg / kg of dry pulp. Regarding treatment of honey water results BOD and COD decreased, not reaching below the LMP, the STS is able to reduce below the LMP, the pH is within the range of the LMP, the temperature is below the LMP, like nitrates.

Thus, it was concluded that it is possible, first use and transform agricultural waste coffee to add value holistically, and on the other hand reduce the negative impacts on the environment generated by the wastewater.

Key words: coffee pulp, biological degradation.

## II. Introducción

El valle del Alto Mayo, corresponde la parte alta de la cuenca de río Mayo; se ubica en la región de Ceja de Selva del norte del Perú, entre los paralelos 5° 23' y 6° 14' de latitud Sur, y los meridianos 77° 00' y 77° 48' de longitud Oeste del Meridiano de Greenwich a unos 680 Km. al norte de Lima. Abarca las provincias de Moyobamba, Rioja y parte de la Provincia de Rodríguez de Mendoza (departamento de Amazonas) con una superficie total aproximado de 6 400,00 Km<sup>2</sup> ó 765 400,00 Has. La precipitación anual puede oscilar entre 1000 y 2000 mm.

El café en el valle del Alto Mayo, es el segundo cultivo más importante en producción agrícola (Ministerio de Agricultura, 2004). La pulpa de café que se obtiene mediante el beneficio húmedo de las cerezas de café generalmente se considera como un desecho y los métodos comunes para deshacerse de este material incluyen su descarga en los cursos de agua y su amontonamiento en terrenos agrícolas cercanos.

En los países productores de café esto constituye una fuente muy severa de contaminación y un problema ambiental muy serio. El café maduro, presenta una composición en la cual el grano, que es la parte aprovechable para el proceso, representa el 20% del volumen total de la fruta, de manera tal que, el procesamiento de beneficiado genera un 80% del volumen procesado en calidad de desechos, cada uno en un grado diferente constituye un riesgo para el medio ambiente si no se reutiliza de una manera integral para otros propósitos utilizando los principios de producción más limpia.

El 40% corresponde a la pulpa de café, que en el Alto Mayo el cultivo asciende a 15 qq/Ha. (OIA, MINAG-2002) y mediante ello se estima una producción de pulpa húmeda de 6996,60 Tn. (OIA-2002, en base a 25350 Hec.). Debido a estos problemas que se generan; con el presente trabajo de investigación se demostró el aprovechamiento de este desecho, a nivel de laboratorio, aprovechando los contenidos de azúcares reductores y no reductores presentes en la pulpa del café, mediante los procesos de fermentación anaerobia en un biorreactor tipo BATCH con agitador Rushtony destilado, para lograr la obtención de alcoholes y

extracción de taninos, sustancias orgánicas producto de la degradación biológica de la pulpa.

El agua utilizada para despulpar y lavar se convierte en residual (agua miel). Su naturaleza química está relacionada con la composición físico-química de la pulpa y el mucílago, debido a que estos dos elementos proporcionan partículas y componentes durante el contacto turbulento e intenso con agua limpia. Así se origina su aporte como carga orgánica (ANACAFE, 2005), por lo tanto el residuo sólido que representa entre un 40% y 46% del peso del fruto con una carga contaminante equivalente a 20 kilogramos de demanda química de oxígeno (DQO) por quintal de café oro (equivalente poblacional anual de 0.96 persona) y el mucílago, residuo líquido que representa entre 9% y 11% del peso del fruto con una carga contaminante equivalente a 6.0 kilogramos de demanda química de oxígeno (DQO) por quintal de café oro (equivalente poblacional anual de 0.29 persona), (UNI, 2011).

En ese sentido, el presente trabajo de investigación tuvo como objetivo general aprovechar sistémicamente la pulpa de café como residuo agrícola y tratamiento de las aguas mieles por biorremediación en el Alto Mayo.

### III. Materiales y Métodos

#### 3.1. Producción de bioetanol a partir de los ART extraídos de la pulpa de *Coffea arábica* “café”

**Etapas:**

##### **Secado y molienda del café**

###### **Secado**

Se han secado 30 kg de cáscara de café en estufa a 105 °C durante 24 horas, de manera uniforme, extrayendo la humedad.

###### **Molienda**

La cáscara seca obtenida de *Coffea arabica* “café”, se molió utilizando molinos de mano hasta alcanzar partículas finas.

###### **Extracción y determinación de los azúcares**

En frascos de vidrio de 500 ml. se procedió a la extracción de los azúcares reductores totales, utilizando el método físico (hervido y auto clavado) para ser utilizados en la fermentación. La determinación de la concentración de azúcares se llevó a cabo empleando el método de Folin and Wu, obteniendo la absorbancia tanto de la solución con estándar de glucosa siendo 0,076 que permitió calcular el factor de dilución, así como la absorbancia de la solución con mosto azucarado siendo 1,424. A partir de estos datos se determinó que la máxima concentración de azúcares reductores totales por litro es 18,8 g.

###### **Construcción e instalación de los biorreactores**

Se construyeron 03 Biorreactores tipo BATCH con agitador, de acero inoxidable con capacidad de 10 L cada uno, para el proceso de fermentación.

### **Fermentación de azúcares**

Se cargaron tres biorreactores tipo BATCH con agitador, de acero inoxidable con 07 L de mosto (extracto de azúcares reductores totales de cáscara de *Coffea arábica* "café"), en cada biorreactor. Luego se agregó 7 g de levadura de *Saccharomyces cereviceae* a cada biorreactor. Se cerraron herméticamente los biorreactores y se colocó una manguera que por un extremo da a una trampa con agua para la eliminación del CO<sub>2</sub>. Se dejó fermentar por espacio de 07 días, agitando el biorreactor para su homogenizado, cada 24 horas, por espacio de 10 a 15 segundos a través de su mecanismo incorporado.

### **Medición de producción de bioetanol**

La medición del porcentaje de bioetanol obtenido se realizó por el método de la alcoholimetría usando como instrumento el alcoholímetro.

## **3.2. Extracción de Polifenoles**

### **Reactivos**

1. Solución de metanol-agua-ácido acético (80-18-2): para 200 mL. mezclar, 160 mL de metanol, 36 mL de agua y 4 mL. de ácido acético glacial.
2. Solución de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 200 g/L: 10 g diluir y completar a 50 mL.

### **Procedimiento**

1. Secado de la pulpa de café: en una estufa a la temperatura de 40-45 °C se seca la cáscara y el tegumento por 24 horas.
2. Molienda de la pulpa: tanto la cáscara como el tegumento son molidos en un mortero y guardados en envases de vidrio de color ámbar.
3. Extracción de aceites extraíbles: pesar 5 g de cáscara (o tegumento) de pulpa de café y depositar en un erlenmeyer de 125 mL juntamente con 50.0 mL de hexano y se agita a 100 rpm por 30 minutos a la temperatura de 30°C. Esto se repite tres veces.
4. Al residuo de (3) adicionar 50 mL de la solución metanol-agua-ácido acético a 50°C. Luego la solución se calienta a la temperatura de 50°C y

se mantiene en agitación a 100 rpm por el tiempo de 40 minutos. Esto se repite tres veces y la solución resultante es recolectada para su siguiente operación

5. La solución recolectada del paso anterior es procesada en un rotavapor para obtener un concentrado el cual es acidificado con HCl 0.10 M para conseguir una solución de pH 3.0. Esto es transferido a un embudo de decantación de 125 mL juntamente con el doble de volumen de acetato de etilo. Después de una agitación por unos 5 minutos se deja en reposo y los fenoles que se encuentran en la fase orgánica son guardados en un envase de color ámbar listo para su medición.
6. Preparación de la muestra de (5): 0.20 mL de muestra en una fiola de 10 mL se le adiciona 5.0 mL de solución de metanol-agua-ácido acético, se adiciona 1.0 mL de carbonato de sodio de 200g/L, se le adiciona 3.5 mL y se agita para homogenizar. Se incuba durante 10 minutos en baño maría a 70 °C.
7. A la solución resultante de (6), se lee en el espectrofotómetro a la longitud de onda de 758 nm.

#### **Validación:**

##### **1. La linealidad:**

- a) Preparar una solución estándar de 1000 ppm en ácido gálico: pesar 250 mg de ácido gálico y transferirlo a una fiola de 250 mL donde se le agrega unos 50 mL de agua y 5 mL de metanol. Se disuelve y se completa con agua.
- b) Preparar los siguientes estándares diluidos: después de agregar el estándar adicionar unos 2 mL de agua, 0.25 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu, 1mL de solución de carbonato de sodio y se homogeniza la muestra. Se incuba durante 10 minutos en baño maría a 70 °C por 10 minutos.

Tabla N° 01

## Título: La linealidad

Estándar	ppm de a. gálico	mL de estándar
Blanco	0,0	0
1	0,5	0,100
2	1,0	0,200
3	2,0	0,400
4	4,0	0,800
5	6,0	1,200
6	8,0	1,600
7	10,0	2,000
8	12,0	2,400
9	14,0	2,800

Fuente: Laboratorio de Química Analítica de la Universidad Nacional de Trujillo

## 2. Límite de detección

- a) Se prepararon diez soluciones de blancos en tubos de ensayo de 10 mL cubiertos con papel de aluminio, las cuales contenían agua destilada y las adiciones de reactivos considerados para la linealidad como son 0.25 mL de reactivo de Folin Ciocalteau y 1.0 mL de carbonato de sodio de 200g
- b) Las muestras se pusieron en baño maría a la temperatura de 70°C por 10 minutos. Se enfriaron y se midieron sus absorbancias a la longitud de onda de 758 nm
- c) Los valores de concentración en términos de ácido gálico se resume en la sección de resultados.
- d) Una vez determinado las mediciones de absorbancia, su valor se reemplaza en la ecuación de la curva de linealidad y se determina su concentración en términos de ácido gálico. Luego se aplica la siguiente ecuación para el límite de detección:

$$LD = C + ks_{bl} = C + 3s_{bl}$$

Donde:

C: concentración promedio en ppm

k: constante que para el límite de detección es igual a 3

$s_{bl}$ : desviación estándar de las concentraciones de los blancos

### 3. Límite de cuantificación

Se emplean los valores obtenidos en el límite de detección donde el valor de k ahora tiene un valor de 10, es decir

$$LD = C + k s_{bl} = C + 10 s_{bl}$$

### 4. Precisión

#### 4.1. Repetibilidad:

- Se preparan 100 mL de una solución estándar de trabajo fresca de ácido gálico de 100 ppm: medir 10.0 mL de la solución de 1000 ppm y depositarlo en una fiola de color ámbar donde se le afora con agua.
- Se preparan 15 soluciones de estándar diluidas similarmente a las soluciones para la linealidad con tres concentraciones según la siguiente tabla:

**Tabla N° 02**

**Título: Repetibilidad**

Soluciones	mL de solución de ácido gálico de 100 ppm	mL de solución de Folin Ciocalteau	mL de carbonato de sodio
5 soluciones de ácido gálico de 4.0 ppm	0,400	0,25	1,0
5 soluciones de ácido gálico de 6.0 ppm	0,600	0,25	1,0
5 soluciones de ácido gálico de 8.0 ppm	0,800	0,25	1,0

Fuente: Laboratorio de Química Analítica de la Universidad Nacional de Trujillo

- Medir las soluciones similarmente a la prueba de linealidad.

4.2. **Precisión intermedia:** similar a la prueba de repetibilidad con la diferencia que serán dos analistas harán la prueba mencionada.

## 5. Exactitud

- a) Se preparan 100 mL de una solución estándar de trabajo fresca de ácido gálico de 100 ppm: medir 10.0 mL de la solución de 1000 ppm y depositarlo en una fiola de color ámbar donde se le afora con agua.
- b) Se preparan 15 soluciones de estándar diluidas similarmente a las soluciones para la linealidad con tres concentraciones según la siguiente tabla:

**Tabla N° 03**

Soluciones	mL de solución de ácido gálico de 100 ppm	mL de solución de Folin Ciocalteau	mL de carbonato de sodio
Cinco soluciones de ácido gálico de 2.0 ppm + 0.10 mL de muestra	0.200	0.25	1.0
Cinco soluciones de ácido gálico de 3.0 ppm + 0.20 mL de muestra	0.300	0.25	1.0
Cinco soluciones de ácido gálico de 4.0 ppm + 0.30 mL de muestra	0.400	0.25	1.0

Fuente: Laboratorio de Química Analítica de la Universidad Nacional de Trujillo

- c) Medir las soluciones similarmente a la prueba de linealidad.

## 6. Robustez

Para aplicar esta prueba se procede de acuerdo al método de Youden-Stein que se indica en la siguiente tabla:

**Tabla N° 04**

**Título: Robustez**

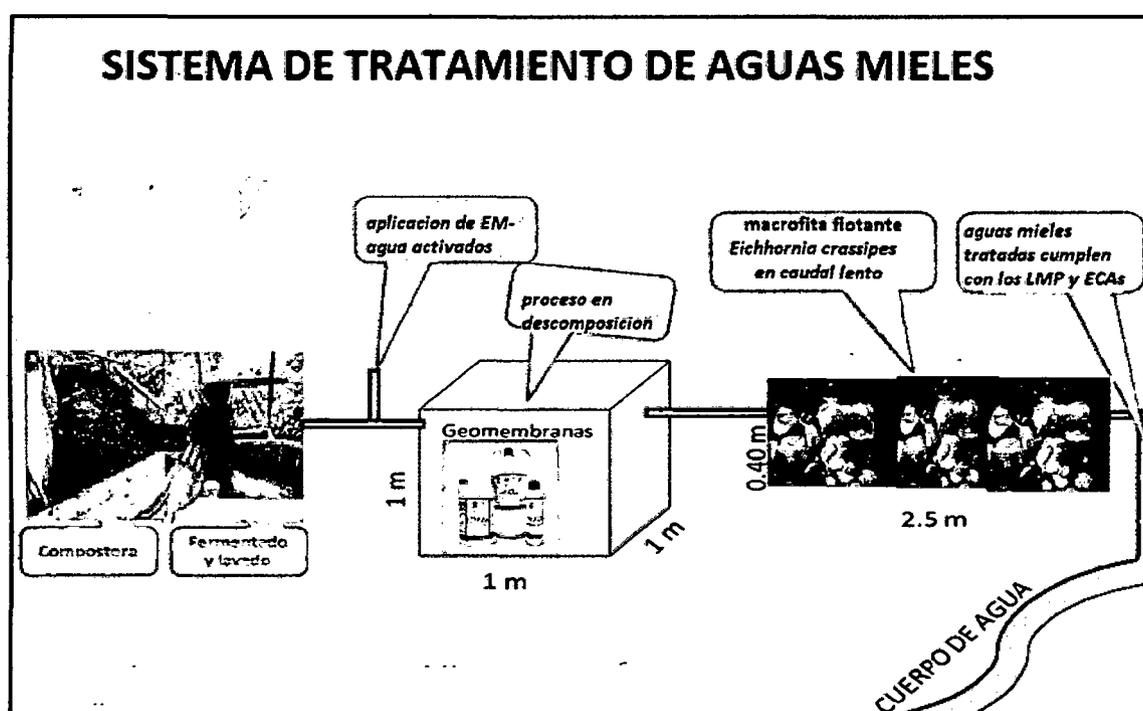
Parámetro	longitud de onda		tiempo de baño maría		mL de Folin-Ciocalteau		mL de carbonato de sodio	
	$\lambda$ , A	$\lambda$ , a	t(min), B	t(min), b	C	C	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , D	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , d
Valor	758	762	10	8	0.25	0.2	1	0.8

Fuente: Laboratorio de Química Analítica de la Universidad Nacional de Trujillo

### 3.3. Sistema de tratamiento de aguas mieles

- Geomembrana
- Pegamento
- Tubo PVC
- Conectores PVC
- Microorganismos eficientes
- Macrofitas acuáticas

FIGURA N° 01



Fuente: Elaboración por el equipo de investigadores

#### Métodos de análisis

La metodología empleada en los análisis del agua miel para cada parámetro establecido en la investigación se especifica a continuación:

**Cuadro N° 01****Título: Parámetros físicos y químicos**

Parámetros	Unidad	Método
Turbiedad	U.N.T	Método Nefelométrico
pH	Potencial de Hidrógeno	Método de Potenciométrico
T°	°C	Método por termómetro de mercurio
S.S.T	mg/L	Método por Espectrofotométrico
D.B.O	mg/L	Método de Electrodo de Membrana
D.Q.O	mg/L	Método de Electrodo de Membrana
Fosfatos	mg/L	Método por Espectrofotométrico
Nitratos	mg/L	Método por Espectrofotométrico

Fuente: Laboratorio Anaquímicos

**Cuadro N° 02****Título: Límites Máximos Permisibles de aguas residuales**

Parámetro	Valores	Límites Máximos permitidos para efluentes vertidos a cuerpos de agua
Aceites y grasas	mg/ml	Menor a 20 ml
Coliformes fecales	NMP/100 ml	10,000
Demanda bioquímica de oxígeno	mg/L	100
Demanda Química de Oxígeno	mg/L	200
pH	Unidad	6,5 - 8,5
Solidos Totales Suspendidos	ml/Lt	150
Temperatura	°C	Menor a 35° C

Fuente: D°S° N° 003-2010-MINAM

### **Eficiencia del sistema de tratamiento de aguas mieles**

Para el análisis de la eficiencia del sistema se utilizará la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Eficiencia} = \frac{\text{concentración}_{\text{entrada}} - \text{concentración}_{\text{salida}}}{\text{concentración}_{\text{entrada}}} \times 100$$

Las concentraciones de contaminantes de las aguas mieles fueron comparadas con los valores de los “Límites Máximos Permisibles para los efluentes de Planta de Tratamiento de Aguas Residuales”.

## IV. Resultados y Discusión

### 4.1. Obtención de bioetanol a partir de azúcares reductores totales (ART) extraídos a partir de pulpa seca de *Coffea arábica*

Terminado el proceso de extracción de ART cáscara de *C. arábica* y sometido al proceso de fermentación anaeróbica en biorreactores tipo BATCH con agitador de acero inoxidable, se ha llegado a obtener los siguientes resultados bajo los procesos y parámetros que se mencionan la siguiente tabla:

Tabla N° 05

Título: Obtención de bioetanol

PROCESOS	PARÁMETROS	RESULTADO
Secado de la pulpa de café	✓ Temperatura (105 °C/24h)	02 kg de pulpa seca
Extracción de los ART de la pulpa seca	Método Físico ✓ Hervido (100°C) x 01 hora ✓ Autoclavado (121 °C x 15 min/ 15 lb)	18,8 g de ART/L
Fermentación de ART	✓ Biorreactor tipo Batch agitado ✓ Concentración de ART 18,8 g/L de mosto ✓ *Cantidad de levadura (1 g por L de mosto) ✓ pH 4,5 ✓ T° 25 +/-3°C ✓ Tiempo 96 hs	2,0 % de bioetanol por cada L de mosto

Fuente: Elaboración por el equipo de investigadores.

John F. Monsalve y Col. Manifiesta que la hidrólisis ácida de cáscara de banano produce 20 g/l de azúcares reductores, comparado con esta investigación se obtuvo 18,8 g /l siendo semejante la obtención de ART. Sin embargo con la yuca con 170 g/l de almidón a; pH 0.8 en 5 horas se logra conversión completa a azúcares reductores.

Jean Paul Villarreal, 2013 logro obtener etanol a partir de la cáscara de plátano verde y banano mediante un proceso de fermentación alcohólica catalizada por levadura, obteniendo valores muy bajos de aproximadamente un 1,36% y 1,79% de alcohol respectivamente. Comparado con un 2.0% obtenido en la fermentación de la cáscara de café en el presente trabajo de investigación. Lo anterior puede atribuirse a que la cáscara de plátano verde y café tiene menos contenido de azúcares que es de donde se obtiene el alcohol en la fermentación. Para mejorar el rendimiento del procedimiento se deben controlar de manera más rigurosa a algunos factores tales como la temperatura, la concentración de azúcares, el pH o el ingreso de aire a la reacción.

Las cascarras de café son simplemente desechos que se generan en algunos casos en grandes cantidades y que podrían reciclarse en un proceso tan sencillo y económico para obtener algo tan importante como el alcohol etílico. Lo importante es que las aplicaciones del etanol son muy amplias y van desde uso farmacéutico, comercial, industrial hasta su uso como combustible y que los desechos de este procedimiento no son contaminantes para el medio ambiente.

#### **4.2. Obtención de compost**

Los residuos sólidos generados del proceso de fermentación anaeróbica para la obtención de bioetanol en los biorreactores, fueron transformados por microorganismos eficaces presentes en el estiércol de ganado vacuno, obteniéndose en 15 días los siguientes resultados:

Tabla N° 06

COMPOST	CANTIDAD
Residuos sólidos generados del proceso de fermentación anaeróbica para la obtención de bioetanol	05 kg
Estiércol de ganado vacuno	03 kg
Compost obtenido	06 kg

Fuente: Elaboración por el equipo de investigadores.

Vásquez de Díaz, refiere que el proceso de compostaje tradicional tarda cerca de 150 días, por lo que se planteó disminuir el tiempo a 40 días, en esta investigación se trabajó con residuos generados de la fermentación alcohólica, obteniéndose una conversión de 75% del peso debido a que habían pasado por un proceso previo.

La producción de compost a partir de los residuos generados del proceso de fermentación alcohólica de la cascara de café es sumamente positivo, pues mientras por un lado se evita arrojarlo al río y se aprovecha como abono natural para las plantas, con el consiguiente ahorro en el uso de combustibles fósiles, como el petróleo y la gasolina.

#### 4.3. Obtención de Polifenoles

Después de realizar los procesos de extracción de los polifenoles de la pulpa seca de *Coffea arábica*, se ha determinado la presencia en mayor concentración del polifenol: ácido gálico, en la concentración que se muestra en la siguiente tabla:

Tabla N° 07

**Título: Concentración de la muestra:**

Ensayo	A	ppm	ppm*	ppm, prom	mg/kg pulpa	mg/g pulpa
1	0.3213	3.0157	150.7827	151.84	4555.2	4.56
2	0.3225	3.0270	151.3520			
3	0.3267	3.0677	153.3871			

ppm\* : considerando la dilución en la medición

Fuente: Laboratorio Anaquímicos

Según los resultados obtenidos el Ácido Gálico es el principal y más abundante de los polifenoles que se encuentra en la pulpa de café en una concentración de 4,56 mg/g de pulpa o 4555,2 mg/kg de pulpa seca. Este es un ácido orgánico también conocido como ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico, que se encuentra en las agallas, en las hojas de té, en la corteza de roble y otras plantas como la pulpa en estudio, su fórmula química es  $C_6H_2(OH)_3COOH$ .

Estudios realizados sobre la acción perjudicial del ácido gálico y otros polifenoles demuestran que estos actúan haciendo variar el pH (acidificación) del suelo e inhiben el crecimiento radicular de las plantas, lo cual demuestra en la práctica que la eliminación de la pulpa del café al momento del despulpado, modifica las características del suelo deteriorándolo e influyendo sobre este cultivo y otros.

Sin embargo, al haber determinado la alta concentración de ácido gálico en la pulpa de café, éste puede ser aprovechado al extraerlo en el laboratorio y ser usado con diversos fines, así lo demuestra un estudio publicado en la edición de marzo de 2006 de la revista "Toxicological Sciences", donde se afirma que el ácido gálico posee propiedades antiinflamatorias significativas e impide la expresión de sustancias químicas inflamatorias como las citoquinas y las histaminas. Los investigadores del estudio afirman que el ácido gálico se puede utilizar para tratar enfermedades alérgicas inflamatorias.

Así mismo algunos estudios en animales, como el publicado en la edición de mayo de 2010 del "Journal of Pharmacy and Pharmacology", indican que el ácido gálico exhibe una actividad antioxidante significativa y puede proteger al hígado de los efectos nocivos de los radicales libres que se forman como resultado de diversos procesos metabólicos en el cuerpo. Los radicales libres inestables pueden interactuar con el ADN y las proteínas de las células humanas, dañándolas.

El ácido gálico también puede beneficiar a los pacientes con diabetes mediante la activación de la liberación de insulina por las células pancreáticas, según un estudio publicado en la edición de enero de 2010 de la "Phytotherapy Research".

Los hongos, especialmente el *Aspergillus flavus* y el *A. parasiticus*, producen una toxina perjudicial conocida como la aflatoxina, que puede contaminar los alimentos, tales como las nueces (nuts), el maní, el maíz (corn), el trigo y la semilla de algodón. Sin embargo, el ácido gálico tiene la capacidad de inhibir las enzimas responsables de la producción de aflatoxinas de los hongos, según el U.S. Department of Agriculture; por esto, puede contribuir al desarrollo de una manera eco-amigable de hacer frente a las aflatoxinas.

Por tanto, la extracción del ácido gálico de la pulpa de café permite ser aprovechado de manera eficiente como valor agregado de este residuo orgánico y evitar la contaminación del suelo y el agua en las quebradas donde existen estos cultivos y la actividad de despulpado.

#### **4.4. Biorremediación por el sistema de tratamiento de aguas mieles**

##### **4.4.1. Parámetros de las aguas mieles a los 2 días en el sistema de tratamiento:**

Después de 2 días de haber instalado el sistema de tratamiento de aguas mieles se realizó la primera evaluación de los principales parámetros físicos y químicos (turbiedad, pH, temperatura, sólidos suspendidos totales, DBO<sub>5</sub>, DQO, fosfatos y nitratos), en la entrada,

en el tratamiento con ME- agua y en el humedal con los micrófitos flotantes, cuyos datos se presentan en la siguiente tabla:

**Tabla N° 08**

**Título: Análisis de parámetros físicos –químicos a los 2 días**

PARÁMETROS	UNIDAD	VALORES DE LOS PARAMETROS EN LOS PUNTOS DE MUESTREO DEL SISTEMA DE TRATAMIENTO DE AGUA MIELES		
		ENTRADA AL SISTEMA	CON MICROORGANISMOS EFICIENTES	CON MACROFITAS FLOTANTES (SALIDA)
Turbiedad	U.N.T	85.0	45.0	35.0
pH	Potencial de Hidrógeno	5.25	6.80	5.89
T°	°C	22.30	22.55	22.45
S.S.T	mg/L	220.0	85.0	72.0
D.B.O	mg/L	1750.0	467.0	720.0
D.Q.O	mg/L	3850.0	1180.0	1392.0
Fosfatos	mg/L	18.0	8.0	9.0
Nitratos	mg/L	13.0	6.0	8.0

Fuente: Laboratorio Anaquímicos

#### **4.4.2. Parámetros de las aguas mieles a los 5 días en el sistema de tratamiento**

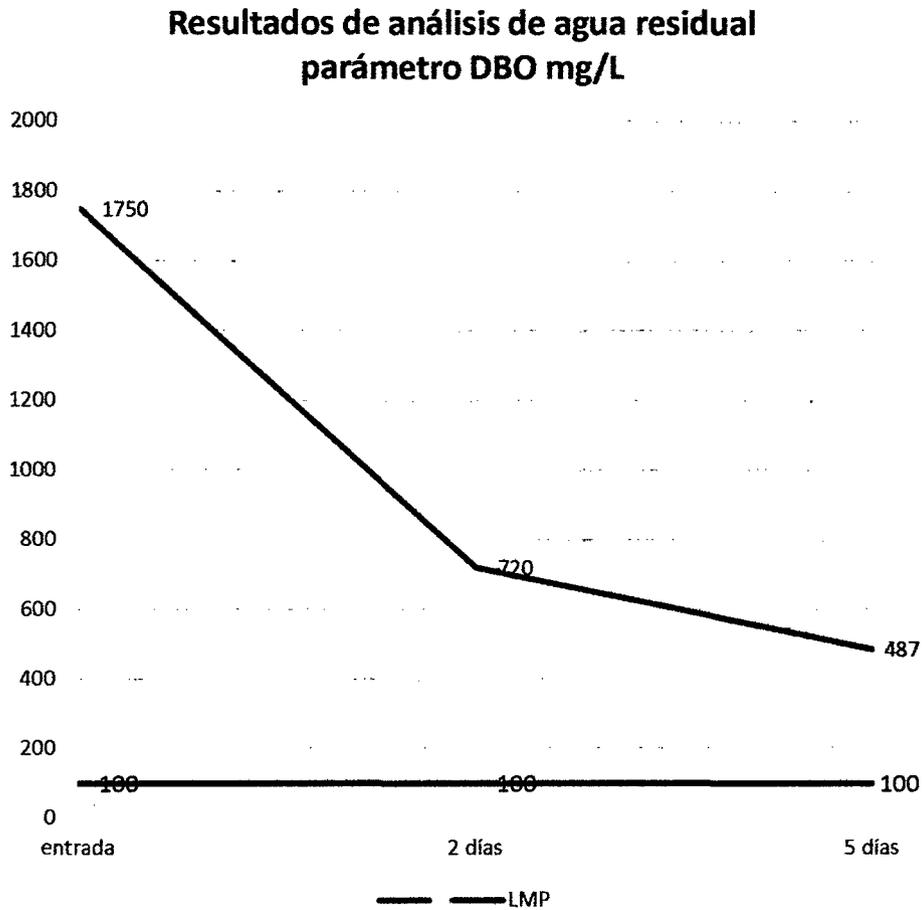
A los 5 días de haber instalado el sistema de tratamiento de aguas mieles se realizó la segunda evaluación de los principales parámetros físicos y químicos (turbiedad, pH, temperatura, sólidos suspendidos totales, DBO5, DQO, fosfatos y nitratos), en la entrada, en el tratamiento con ME-agua y en el humedal con los micrófitos flotantes, cuyos datos se presentan en la siguiente tabla:

**Tabla N° 09**  
**Análisis de parámetros físicos –químicos a los 5 días**

PARÁMETROS	UNIDAD	VALORES DE LOS PARAMETROS EN LOS PUNTOS DE MUESTREO DEL SISTEMA DE TRATAMIENTO DE AGUA MIELES		
		ENTRADA AL SISTEMA	CON MICROORGANISMOS EFICIENTES	CON MACROFITAS FLOTANTES (SALIDA)
Turbiedad	U.N.T	85.0	38.0	30.0
pH	Potencial de Hidrógeno	5.25	6.50	6.93
T°	°C	22.30	22.40	22.67
S.S.T	mg/L	220.0	94.0	78.0
D.B.O	mg/L	1750.0	389.0	487.0
D.Q.O	mg/L	3850.0	1050.0	1210.0
Fosfatos	mg/L	18.0	6.0	8.0
Nitratos	mg/L	13.0	5.0	7.0

Fuente: Laboratorio Anaquímicos

**Grafico N° 01**

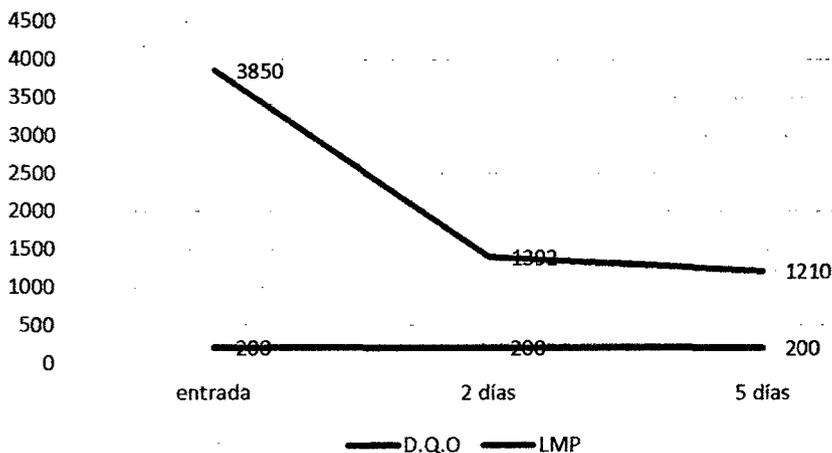


Fuente: Tabla N° 08 y N° 09

Según el grafico N° 01, podemos observar que el agua residual a la entrada tiene un DBO elevado por encima de los LMP, después del tratamiento a los 2 días se nota que baja considerablemente a menos de la mitad y a los 5 días disminuye más, no llegando por debajo de los LMP, pero al ingresar a las agua superficiales aledañas causaran menor impacto.

Gráfico N° 02

### Resultados de análisis de agua residual parámetro DQO mg/L

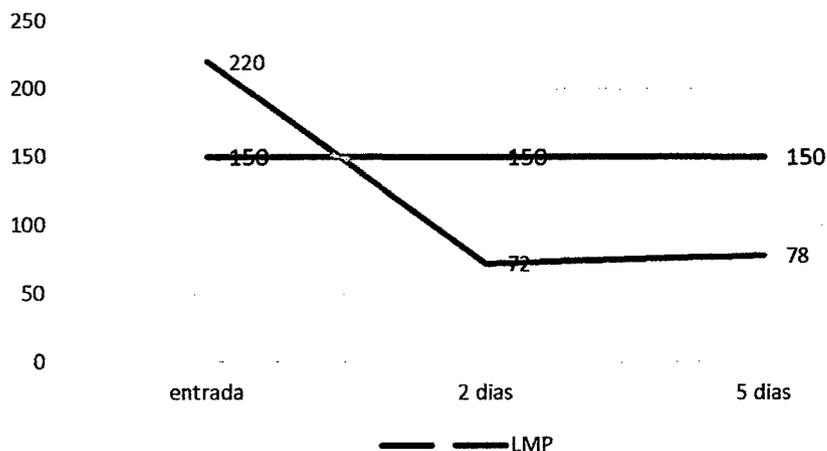


Fuente: Tabla N° 08 y N° 09

Según el grafico N° 02, podemos observar que el agua residual a la entrada tiene un DQO elevado por encima de los LMP, después de ingresar al sistema de tratamiento se nota que baja considerablemente, no llegando por debajo de los LMP, para este parámetro no es eficiente pero al ingresar a las aguas superficiales aledañas causaran menor impacto.

Grafico N°03

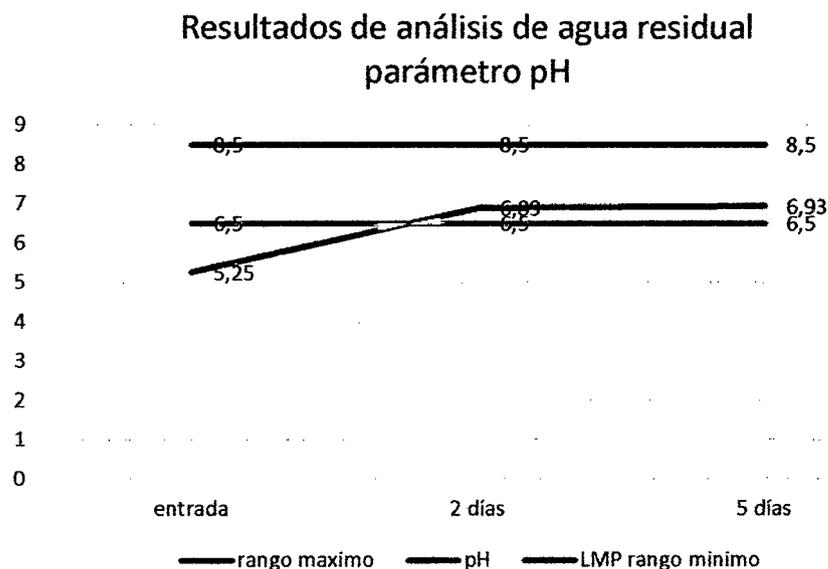
### Resultados de análisis de aguas residual parámetro SST mg/L



Fuente: Tabla N° 08 y N° 09

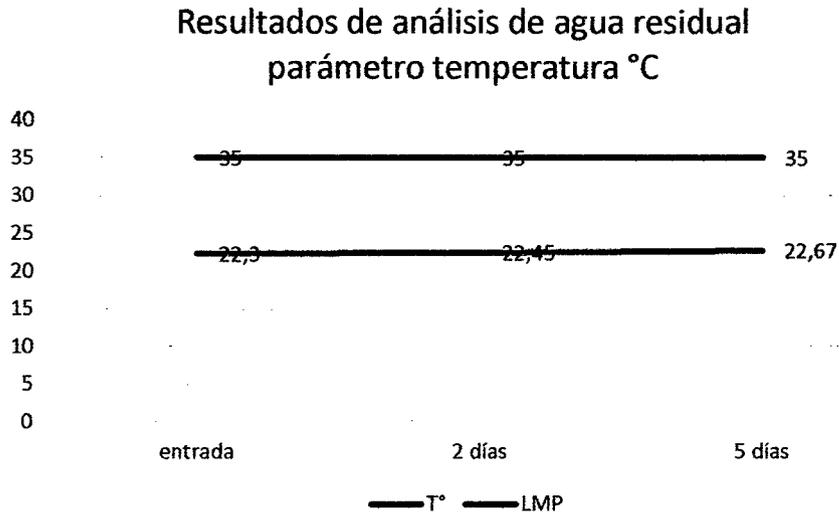
El gráfico N° 03, nos muestra que antes de aplicar el sistema de tratamiento de aguas mieles el parámetro STS está elevado (220 mg/L), pero con el tratamiento se logra disminuir significativamente pasando debajo de los LMP

**Gráfico N° 04**



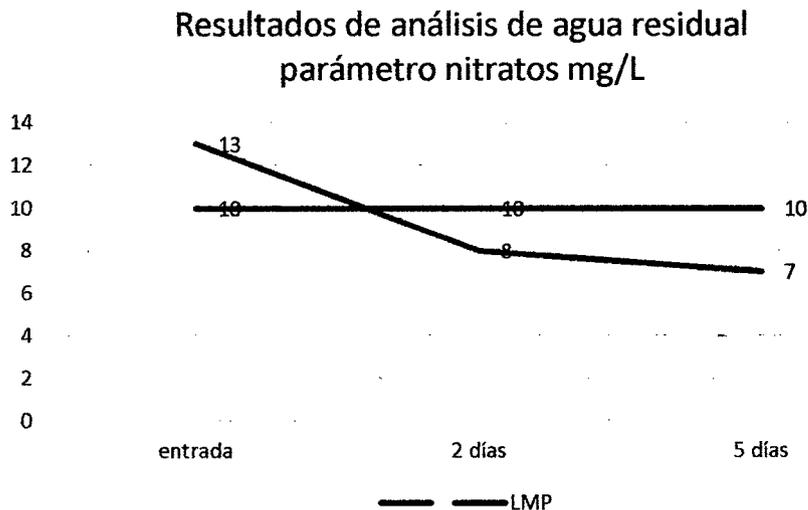
Fuente: Tabla N° 08 y N° 09

El gráfico N° 04, nos presenta que el agua residual producto del lavado del café tiene un pH bajo lo cual significa que el agua es ácida (5.25), después de ingresar al sistema de tratamiento de aguas mieles llega a tener un pH de 6.89 a los 2 días y 6,93 a los 5 días lo cual demuestra que el tratamiento que se está aplicando es eficiente ya que los resultados que se obtienen están dentro del rango de los LMP

**Grafico N° 05**

Fuente: Tabla N° 08 y N° 09

El grafico N° 05, nos indica que la temperatura está por debajo de los LMP, por lo tanto los parámetros no se van a alterar.

**Grafico N° 06**

Fuente: Tabla N° 08 y N° 09

En el gráfico N° 06, se observa que el resultado obtenido para este parámetro a la entrada está por encima de los LMP después del ingreso al sistema de tratamiento se encuentran por debajo de los LMP lo cual indica que el agua es apta para el consumo humano.

#### 4.4.3. Evaluación de la eficiencia del sistema de tratamiento de aguas mieles

**Tabla N° 10**

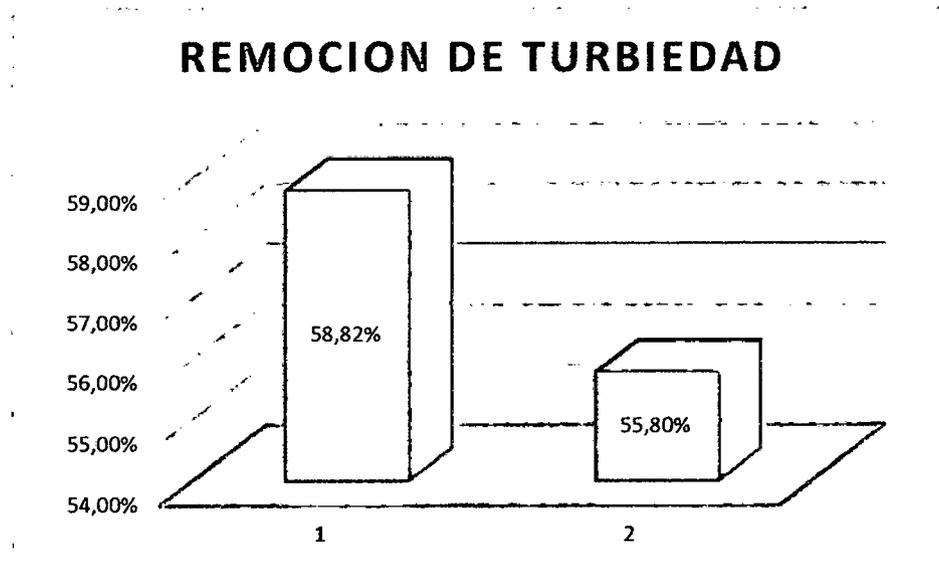
Título: eficiencia del sistema de tratamiento de aguas mieles

PARÁMETROS	UNIDAD	EFICIENCIA	
		2 días	5 días
Turbiedad	U.N.T	58.82 %	55.80 %
S.S.T	mg/L	67.27 %	60.00 %
D.B.O	mg/L	58.85 %	70.80 %
D.Q.O	mg/L	63.84 %	65.76 %
Fosfatos	mg/L	50.00 %	46.66 %
Nitratos	mg/L	58.82 %	55.80 %

Fuente: equipo de investigadores

#### Eficiencia de Remoción de Turbiedad:

**Gráfico N° 07**

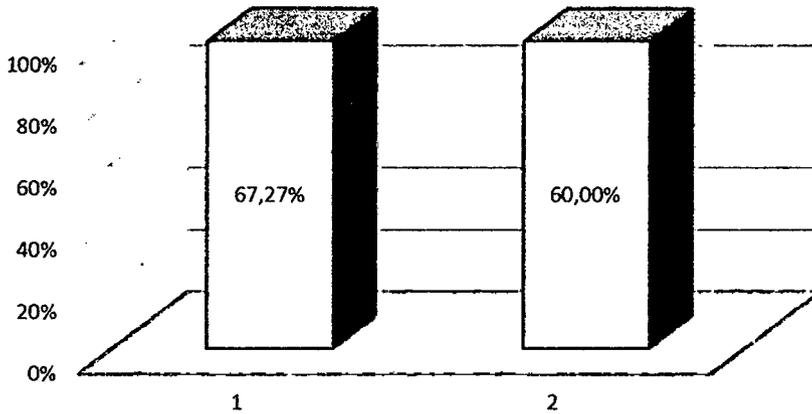


Fuente: Tabla N° 10

Eficiencia de solidos totales suspendidos:

**Gráfico N° 08**

**SOLIDOS TOTALES SUSPENDIDOS**

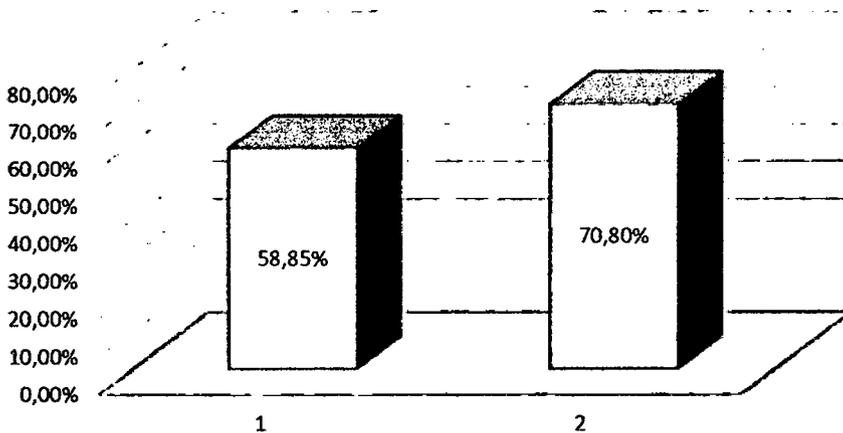


Fuente: Tabla N° 10

Eficiencia de DBO:

**Gráfico N° 09**

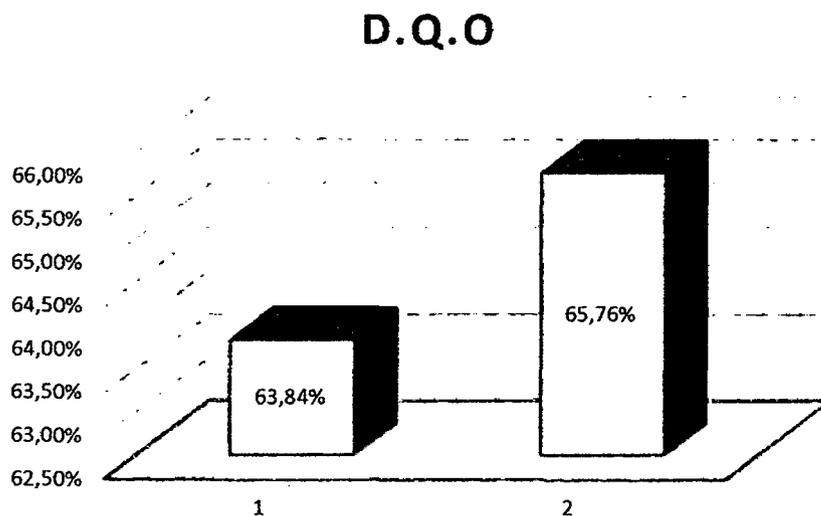
**D.B.O**



Fuente: Tabla N° 10

Eficiencia de D.Q.O.:

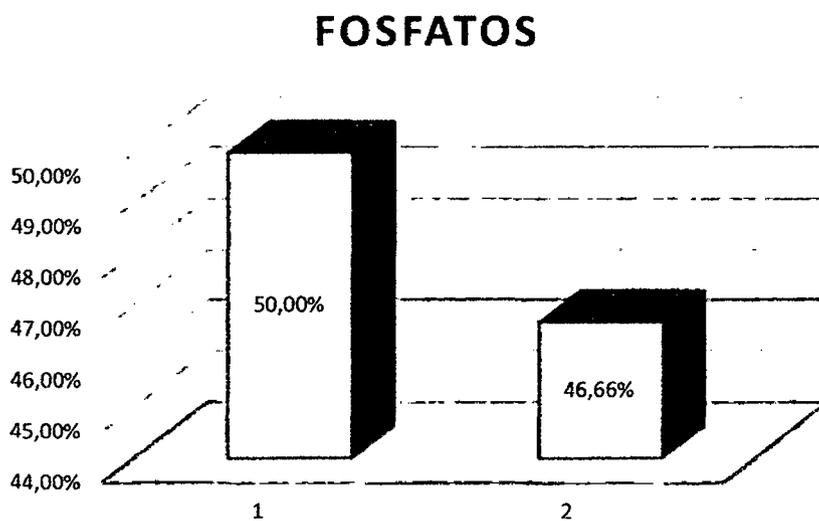
Gráfico N° 10



Fuente: Tabla N° 10

Eficiencia de fosfatos:

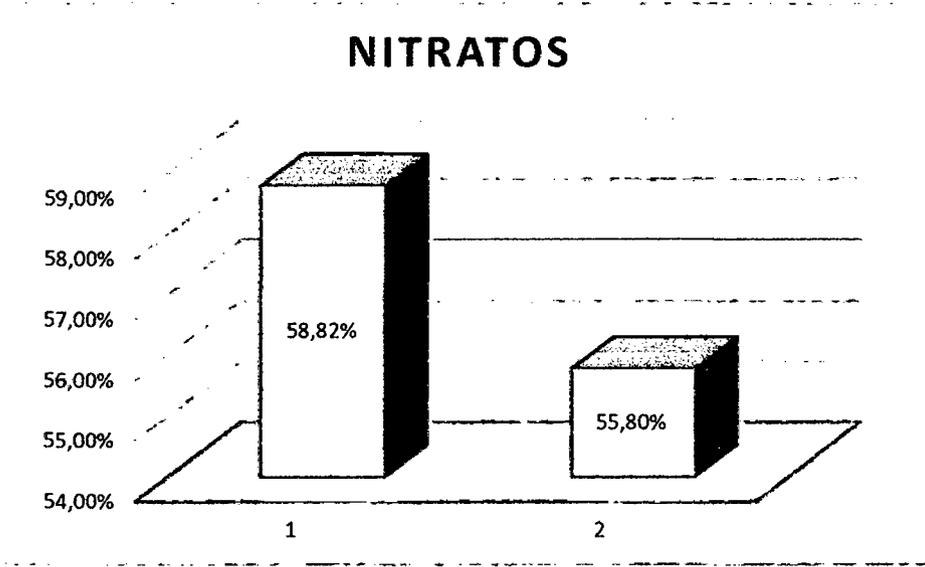
Gráfico N° 11



Fuente: Tabla N° 10

Eficiencia de nitratos:

Gráfico N° 12



Fuente: Tabla N° 10

## V. Conclusiones

1. El aprovechamiento sistémico de la pulpa de café como residuo agrícola y tratamiento de las aguas mieles por biorremediación en el alto mayo” – 2014, si es posible, lo que permite por un lado utilizar y transformar este residuo agrícola para darle valor agregado de manera integral, y por otro lado se disminuye la contaminación que genera sobre el ambiente.
2. Se ha logrado extraer los azúcares reductores totales (ART) del mucilago de la pulpa del café para ser utilizados como sustrato para producir bioetanol; habiéndose obtenido 18,8 g de ART/L a partir de la pulpa seca. Así mismo se ha extraído los polifenoles, siendo el ácido gálico (4,56 mg/g de pulpa) el principal, el mismo que potencialmente puede ser aprovechado por la industria farmacéutica y medicina.
3. Se han construido tres bioreactores tipo batch agitados con agitador Rushton de 10 L de capacidad, para llevar a cabo la fermentación alcohólica de los azúcares reductores totales extraídos, alcanzando el 2,0 % de bioetanol.
4. Se ha producido compost (06 kg) con los residuos sólidos del proceso de fermentación, utilizando estiércol de ganado vacuno (03 kg), que contienen microorganismos eficaces, que poseen células y degradan la celulosa de la pulpa del café (05 kg), obteniéndose un buen compost con características físicas y químicas benéficas para la agricultura.
5. Se utilizado para la biorremediación de las aguas mieles dos técnicas; la primera usando microorganismos eficaces y la fitorremediación, obteniendo buenos resultados en la medición de los parámetros físicos y químicos (Turbidez, sólidos totales, DBO5, DQO), que se detallan en las tablas. Con ello se permite que estas aguas mieles disminuyan sus contaminantes, pudiendo ser aprovechadas para riego o ser vertidas a las quebradas.

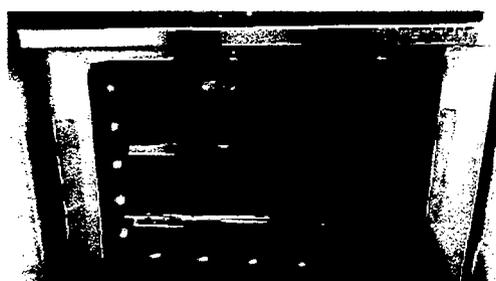
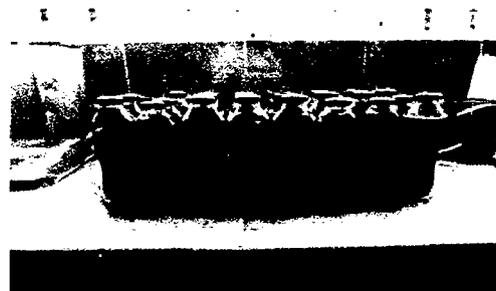
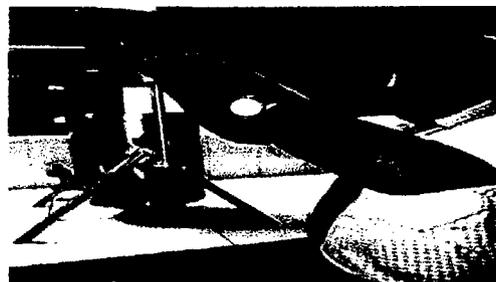
## VI. Recomendaciones

1. A las instituciones regionales y locales, incluir en sus planes de desarrollo sostenible el aprovechamiento sistémico de la pulpa del café, tomando como base los resultados encontrados en esta investigación.
2. A la Facultad de Ecología y Oficina de Investigación de la Universidad Nacional de San Martín, la divulgación de este trabajo hacia los caficultores, promocionando la capacitación técnica por parte de los ejecutores.
3. A los estudiantes de la UNSM-T, cuyas carreras profesionales estén involucrados con el manejo de residuos sólidos agrícolas investiguen en el mejor aprovechamiento de la cáscara de café como alternativa de solución a problemas ambientales y agrícolas.
4. A los agricultores del cultivo de café, impulsar el uso adecuado de sus residuos agrícolas, para evitar contaminación de sus suelos y dar valor agregado a dichos residuos.
5. A los colegas biólogos e ingenieros, seguir investigando sobre esta línea de investigación para generar nuevas tecnologías, pero con factibilidad y facilidad de uso.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arias, S., et al. (2010). Fitorremediación con humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales. *Informe técnico*. 74(1), 12-22.
- Delgadillo, O., Camacho, A., Pérez, L. & Andrade, M. (2010). *Depuración de aguas residuales por medio de humedales artificiales*. Facultad de Agronomía, Universidad Mayor de San Simón. Cochabamba, Bolivia.
- García, P., et al (2009). *Habitantes del agua. Macrófitos*. Agencia Andaluza del Agua. España.
- Monsalve J. (2006). *Producción de etanol a partir de la cáscara de banano y de almidón de yuca*. Universidad Nacional de Colombia-Sede Medellín. Colombia.
- Lara, J. (1999). *Depuración de aguas residuales municipales con humedales artificiales*. Instituto Catalán de Tecnología, Universidad Politécnica de Cataluña. Barcelona.
- Llagas, W. y G, Enrique. (2006). Diseño de humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales en la UNMSM. *Revista del Instituto de Investigaciones*. 15(17), 85-96.
- Manjinder K., et al. (2009). Ácido gálico: Efectos de actividad anti-proliferativa, pro-apoptóticos y anti-tumorigénicos contra el crecimiento en xenoinjertos de carcinoma de próstata en ratones desnudos. *Revista Electrónica de Investigación Educativa*. 26(9), 2133-2140.
- Manjinder. K., et al. (2010). Efectos hepatoprotectores y antioxidantes del ácido gálico en el daño hepático inducido por el paracetamol en ratones. *Revista de farmacia y farmacología*, 62(5), 638-643.
- Rincon, A.; Lopez, E. y J. Bonilla. (1985) *Separación de polifenoles de un extracto amoniacal de pulpa de café y determinación de su toxicidad mediante un ensayo biológico*. Universidad Nacional. Facultad de Ciencias. Bogotá.
- Rojas, J. (2005). *Diversidad bacteriana en el perifiton de raíces de Eichhorniasp., Pistiasp., y Azollasp., en un humedal artificial de la Universidad Earth*. Escuela de Biología, Instituto tecnológico de Costa Rica, Cartago.

- Sameermahmood, Z., et al. (2010). El ácido gálico protege a las células beta RINm5F de la glucolipototoxicidad por sus acciones antiapoptóticas estimulantes de la secreción de insulina. 24 (1), 83 - 94
- Sang-Hyun K., et al. (2006). El ácido gálico inhibe la liberación de histamina y la producción de citoquinas pro-inflamatorias en los mastocitos. 9 (1), 123 – 131.
- USDA (2005). Aliado de las nueces contra la aflatoxina - Ácido gálico. 53 ( 3), 16 –17.

**ANEXOS****Anexo N° 01 Procedimiento de Extracción de Azúcares Reductores Totales  
de Cáscara de *Coffea arábica*****Fig.01 Secado al aire****Fig.02 Secado a estufa 105 °C****Fig. 03 Molido de la cáscara****Fig. 04 Preparación en solución****Fig.05 Hervido por 01 h.****Fig. 06 Preparación para****Fig. 07 Extracción de ATR  
por autoclavado****Fig.08 Fermentación alcohólica en  
biorreactor**

## **Anexo 02. Extracción de Polifenoles (Laboratorio de Química Analítica de la Universidad Nacional de Trujillo).**



**Fig.008 Extracción de polifenoles**



**Fig.009 Análisis de datos**

## **Anexo 03. Tratamiento de Aguas Mieles**



**Fig.010 Tto de aguas mieles en campo**



**Fig. 011 Tto de aguas mieles**



**Fig. 012 Capacitación para Determinación de DBO y DQO**



**Fig.013 Capacitación en Laboratorio**

**Anexo 04. Capacitación a los caficultores sobre manejo integrado de los residuos agrícolas del cultivo pulpa de café.**

