

Determinación de condiciones ácido-térmicas para la eliminación de oxalato de calcio en fibras de bagazo de agave con destino a la industria alimentaria

Rosas Hernández Yuliana, López Bonilla Argelia, Rodríguez González Francisco,
Jiménez Aparicio Antonio Ruperto, Arenas Ocampo Martha Lucía,
Camacho Díaz Brenda Hildeliza

Centro de Desarrollo de Productos Bióticos-IPN, Carretera Yautepec-Jojutla Km. 6,
Calle CEPROBI No. 8, Col. San Isidro Yautepec, Morelos, México, CP 62731.

yrosash1400@alumno.ipn.mx

Fecha de aceptación: 12 de agosto de 2015

Fecha de publicación: 23 de septiembre de 2015

RESUMEN

En la actualidad la fibra de bagazo de Agave tiene escasas aplicaciones, sin embargo debido a su composición química puede ser utilizado para la elaboración de nuevos productos con valor agregado; previo a ello la fibra debe pasar por un proceso para reducir la concentración de oxalato de calcio. En el presente trabajo el bagazo de agave Tequila Weber se sometió a un proceso ácido-térmico usando distintas concentraciones (V/V) 0%, 0.0125%, 0.025%, 0.0375%, 0.05%, 0.0625%, 0.075%, 0.0875% y 0.1% de H_2SO_4 a temperaturas de 24 °C y 60 °C. La materia prima fue sometida a este proceso durante un tiempo de contacto de 2 h y 1 h más cuando se agregaba el quelante a diferentes condiciones iniciales: fibra sin procesar, fibra en presencia de $FeSO_4$ como quelante, fibra después de Organosolv y fibra después de organosolv en presencia de $FeSO_4$. Se cuantificó el porcentaje de oxalato de calcio extraído de la fibra a través del método permanganométrico y se realizó caracterización microestructural.

Palabras clave: oxalatos de calcio, bagazo de agave, proceso ácido-térmico.

ABSTRACT

Today bagasse fiber Agave has few applications, however due to its chemical composition can be used for developing new value-added products; prior to that the fiber must go through a process to reduce the concentration of calcium oxalate. In this paper the Tequila Weber agave bagasse subjected to an acid-thermal process using different concentrations (V / V) 0% 0.0125%, 0.025%, 0.0375%, 0.05%, 0.0625%, 0.075% and 0.0875% 0.1% H_2SO_4 at temperatures of 24 °C and 60 °C. The raw material was subjected to this process for a contact time of 2 hours and one more h when chelating is added to different initial conditions: fiber unprocessed fiber in presence of $FeSO_4$ chelating after Organosolv fiber and fiber after organosolv in presence of $FeSO_4$. The calcium oxalate percentage extracted from the fiber through the permanganometric method and quantified microstructural characterization was performed.

Key words: calcium oxalate, agave bagasse, acid-thermal process.

INTRODUCCIÓN

Además de los polisacáridos de la pared celular de las plantas, que son los principales componentes de la fibra de bagazo de agave, algunos autores han reportado la presencia de cristales de oxalato de calcio los cuales se producen en las hojas y tejidos de las plantas para protección del protoplasma de la acción tóxica de ácido oxálico producido por el metabolismo (Franceschi V R y Horner H T, 1980).

Los oxalatos son sales o ésteres del ácido oxálico. Las sales tienen en común el anión O_2CCO_2 . Se trata de sustancias habitualmente incoloras, reductoras y tóxicas; debido a que en presencia de iones de calcio forman el oxalato de calcio, CaC_2O_4 , una sal muy poco soluble. Existen distintos tipos de oxalatos de calcio de acuerdo a su forma (Figura 1).

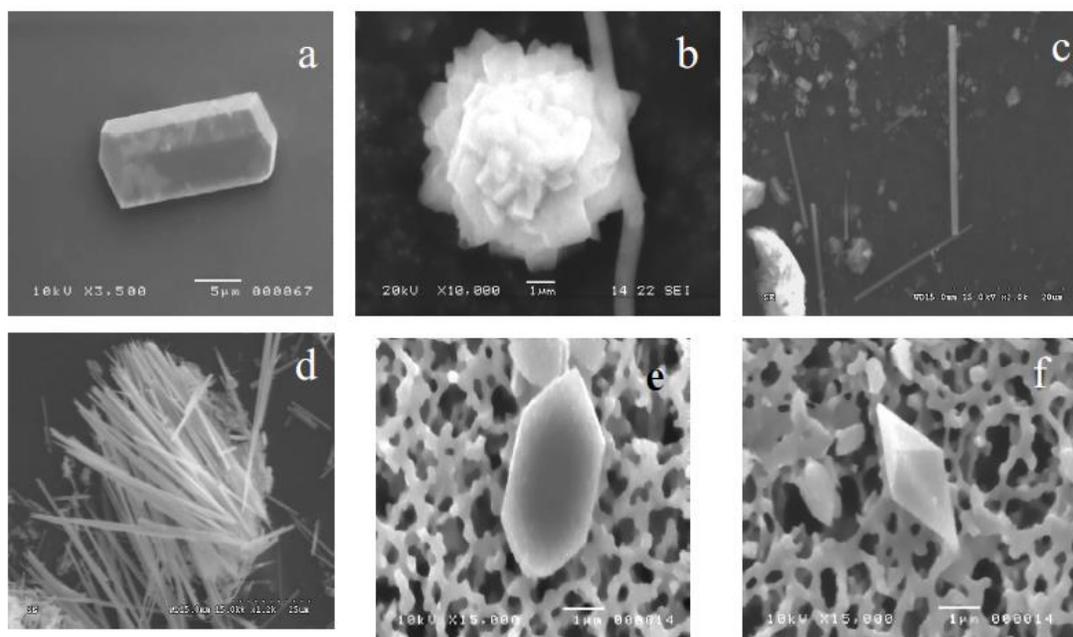


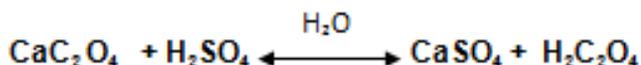
Figura 1. Diferentes morfologías de cristales de oxalato de calcio a) Prisma formado en la testa del frijol común (*Phaseolus vulgaris*), b) Drusa formada en la semilla del fruto de la uva, c) Estiloide formado en las hojas de *Ditrichia viscosa*, d) Rafidios formados en las hojas de *Vitisvinifera*, e) Cristal de oxalato de calcio monohidratado sintético, f) Cristal de oxalato de calcio dihidratado sintético. (REB 23 (1): 18-23, 2004 La biomineralización en plantas).

Cristales de este mineral han sido observados virtualmente en todos los tipos de tejidos vegetales e igualmente en algunas bacterias, hongos y animales (Horner y Wagner, 1995). Sin embargo la presencia de estos compuestos en la fibra de bagazo de agave con destino a la industria alimentaria resulta ser perjudicial, ya que su ingesta genera enfermedades tales como la nefrolitiasis que es la formación de cálculos renales (Goldfarb S, 1994), es por ello que en el presente trabajo se buscó las mejores condiciones de extracción de oxalatos de calcio, para el aprovechamiento integral del bagazo de agave.

Determinación de calcio (Método AOAC 944.03)

El oxalato se disuelve en ácido sulfúrico liberando ácido oxálico el cual se titula con una solución valorada de permanganato de potasio. (James, 1999). Las reacciones involucradas son:

1. Liberación del ácido oxálico por la acción del ácido sulfúrico sobre el oxalato de calcio.



2. Titulación del ácido oxálico con permanganato de potasio.



METODOLOGÍA

Proceso de Organosolv

Consistió en someter la fibra a un proceso de hidrolisis térmica a través de solventes orgánicos (Quintana, 2011).

Para obtener la fibra después de organosolv se colocó 10g de bagazo de Agave con 200 mL de una solución de etanol al 40% y 1 mL de ácido clorhídrico al 0.01% como catalizador, se llevó a ebullición durante 5 horas con reflujo de agua fría para evitar la volatilización del solvente. Después del tiempo de contacto mencionado se filtró y se secó, para finalmente obtener fibra ya fraccionada.

Extracción de oxalatos de calcio a través de un método ácido-térmico

Para la extracción de oxalatos de calcio se utilizó fibra de bagazo de *Agave Tequilana* Weber: a) fibra fina, b) fibra fina después del proceso organosolv, c) fibra fina más FeSO_4 , d) fibra fina después del proceso organosolv más FeSO_4 , se realizó a diferentes concentraciones de H_2SO_4 en solución acuosa, 0.0125, 0.025, 0.0375, 0.05, 0.0625, 0.075, 0.875 y 0.1% (v/v); con un pH aproximado de 2, a temperatura de 24 y 60°C, durante 2 horas.

Se pesó 1g de fibra de bagazo de *Agave Tequilana* Weber, se agregó 100mL de solución de ácido sulfúrico se dejó disolver durante 2 horas con agitación constante a la temperatura indicada. Se filtró a través de un papel filtro y se recibió el filtrado en un matraz Erlenmeyer, en donde la solución filtrada contiene disueltos los oxalatos de calcio (el ácido oxálico libre de calcio). El papel filtro con la torta de filtrado se secó en un horno a 60°C. En el caso de cuando se utilizó el quelante (FeSO_4) después de las 2 horas se agregó este compuesto a la solución dejando un tiempo de contacto de 1 hora, pasando el tiempo se continuó con la filtración.

Cuantificación de oxalatos de calcio por método permanganométrico.

Se tomaron 20 mL de la solución filtrada en un matraz Erlenmeyer y se tituló con una solución de Permanganato de Potasio al 0.1 N hasta que viró a una coloración rosa y se mantuvo por un minuto. Se calculó el porcentaje de oxalatos de calcio presentes en cada solución con la siguiente fórmula de la figura 2:

$$\% \text{CaO} = \left(\text{NKMnO}_4 \times \text{gasto KMnO}_4 \text{ (l)} \times \text{PE CaO} \times 100 \right) \div \text{g de muestra} \dots \dots \dots \text{Ec. 1}$$

Figura 2. Ecuación para calcular el porcentaje de Oxalatos de calcio extraídos

Las primeras gotas de solución de permanganato añadidas no se decoloraron rápidamente, y no se agregó más hasta que se observó la decoloración. Esto indicó que la reacción es lenta al principio, pero cuando apareció la primera traza de Mn (II) catalizó la reacción. Una vez formada la primera traza, la decoloración de permanganato fue más rápida (Vogel Arthur 1957)

Análisis morfométrico de los cristales de oxalato de calcio

Se tomó una alícuota de la solución filtrada y se puso en un portaobjetos, se dejó secar y se capturaron fotografías en un microscopio óptico (Nikon Eclipse 80i, Japan) y una Cámara digital Coolpix-900 (Nikon). Esto es para poder apreciar físicamente la concentración de oxalatos de calcio en las diferentes

soluciones. Se capturaron tres tomas de cada experimento. A cada toma se le realizó un análisis morfométrico con el software *ImageJ* 1.45p.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

El porcentaje de oxalato de calcio que contiene un agave es muy difícil de saber, ya que este parámetro depende de las condiciones ambientales en las que se encuentre esta cactácea como: tipo de suelo, clima, etc. En este caso se realizó cuantificación de la concentración de oxalato de calcio total contenido en el *Agave Tequilana* Weber utilizando el método permanganométrico teniendo 18.022% de esta sal insoluble.

La cuantificación del Oxalato de Calcio extraído al someter las muestras en un proceso ácido-térmico muestra que la fibra después de organosolv tratándola a 60 °C permite que exista mayor extracción (9.73%), esto es debido de que al momento de que la fibra de bagazo de agave es fraccionada con el organosolv los cristales de oxalato de calcio quedan libres de la matriz lignocelulosica y disponibles para el tratamiento ácido térmico. En cuanto a la Fibra usando el quelante no hubo resultados favorables de acuerdo a la figura 3, esto es porque existe una competencia de quelantes, de antemano cuando la fibra es sometida al proceso ácido-térmico el oxalato de calcio entra en contacto con el H_2SO_4 produciendo ácido oxálico y sulfato de calcio; por lo tanto hay una competencia entre el sulfato de calcio y el sulfato ferroso Se puede comprobar por el rendimiento del proceso (Tabla 1), en donde se puede apreciar que a la mayor concentración de H_2SO_4 de 0.1% a 60° C después de Organosolv se obtuvo mayor rendimiento con respecto a las concentraciones menores.

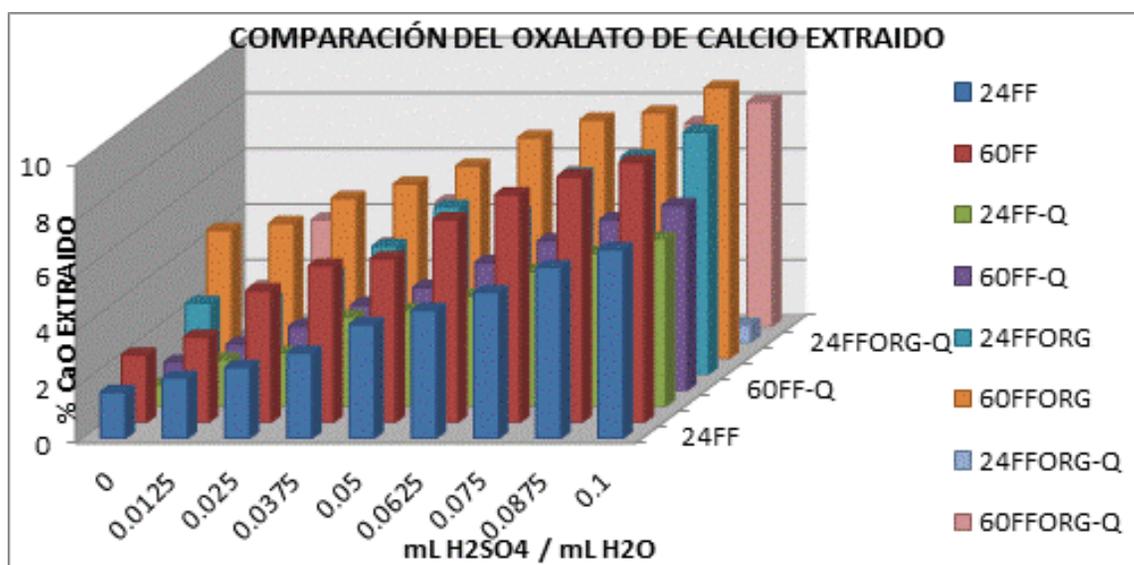


Figura 3- Comparación de la cuantificación del Oxalato de calcio extraído de la fibra de bagazo de agave. Fibra fina (FF) 24 Y 60°C, Fibra fina con quelante $FeSO_4$ (FF-Q) 24 y 60°C, Fibra después de organosolv (FORG) 24 Y 60°C y Fibra después de organosolv con quelante $FeSO_4$ (FORG-Q) 24 y 60°C.

Tabla 1. -Rendimiento del proceso de eliminación de oxalato de calcio de fibras de bagazo de Agave Tequilana Weber.

		RENDIMIENTO DEL PROCESO (%)						
		ANTES DE ORGANOSOLV			DESPUES DE ORGANOSOLV			
%H ₂ S O ₄	24°C	60°C	24°C(FeS O ₄)	60°C(FeS O ₄)	24°C	60°C	24°C(FeSO ₄)	60°C(FeS O ₄)
0	9.238 9	13.5030	4.2641	5.6854	14.213 7	25.5847	1.0660	5.6854
0.0125	12.08 16	17.0564	9.2389	9.2389	14.924 4	27.0061	3.5534	9.2389
0.025	14.21 37	26.2954	10.6603	12.7923	19.899 2	31.9809	7.8175	12.7923
0.0375	17.05 64	31.2702	17.7671	17.0564	25.584 7	34.8236	9.9496	17.0564
0.05	22.74 19	32.6915	19.1885	20.6099	33.402 2	38.3770	12.7923	20.6099
0.0625	25.58 47	40.5091	22.0312	25.5847	31.980 9	44.0625	2.8427	25.5847
0.075	29.13 81	45.4839	27.0061	29.8488	39.798 4	47.6160	4.2641	29.8488
0.0875	34.11 29	49.0373	30.5595	34.1129	43.351 9	49.0373	3.5534	34.1129
0.1	37.66 64	51.8801	33.4022	36.9557	48.326 7	54.0122	3.5534	36.9557

En las micrografías de la figura 4 se pueden corroborar lo mencionado en líneas anteriores, en la figura a) existen cristales formados en forma de rafidios formando conjuntos, la figura b) y d) presentan diversidad de cristales los de mayor tamaño y blanquecinos son rafidios de oxalato de calcio mientras que los cristales más pequeños y amarillentos son los cristales del quelante FeSO₄. La figura c) presenta los cristales de mayor tamaño obteniendo una estructura homogénea y definida.

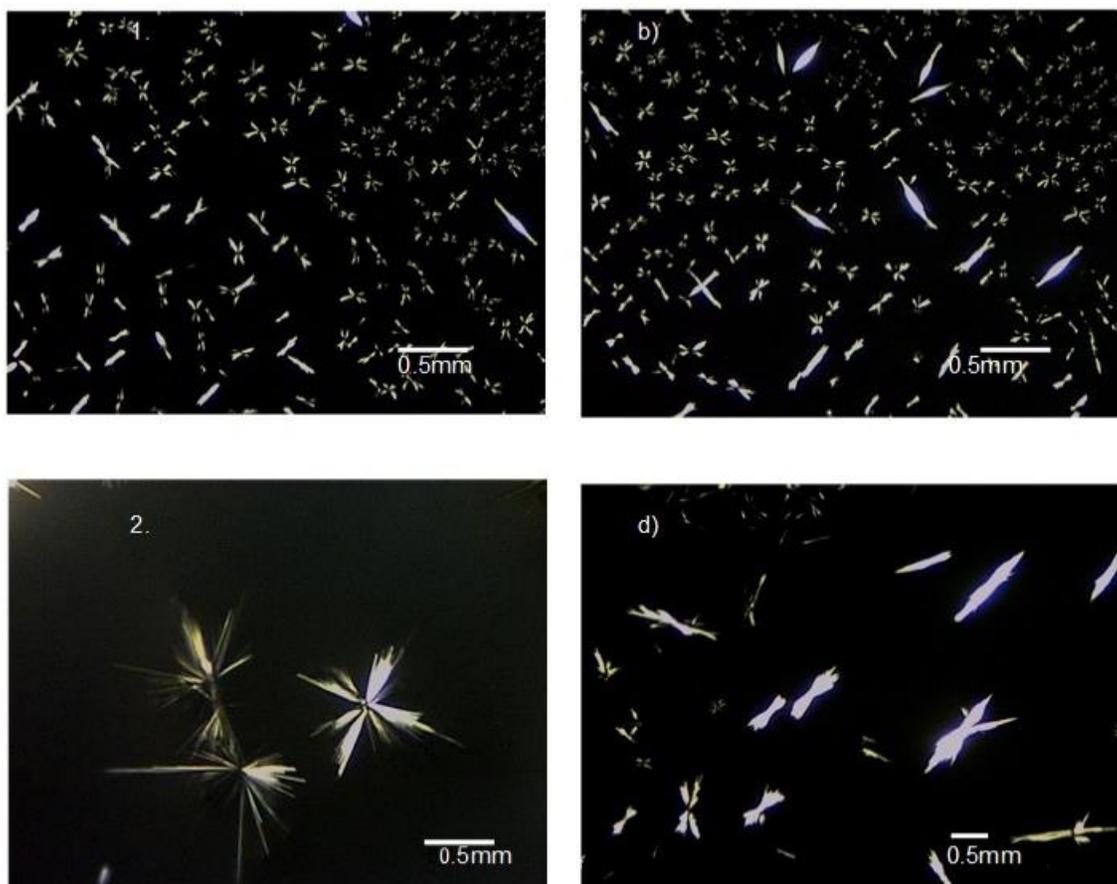


Figura 4. Microfotografías de cristales de oxalato de calcio capturadas con un microscopio óptico NIKON 80i y una cámara digital Coolpix-900 (Nikon), utilizando el programa MetaMorph versión 6.1r, con luz polarizada utilizando un zoom de 10X. a) Fibra fina, b) Fibra fina con FeSO_4 , c) fibra fina después del proceso de organosolv y d) Fibra fina después del proceso de organosolv con FeSO_4 . Todas son muestras de concentración de H_2SO_4 de 0.1% (V/V).

De acuerdo a la Figura 3, los cristales de oxalato de calcio formados de la extracción de fibras de bagazo de agave, después del proceso de organosolv tienden a tener mayor área, perímetro y diámetro de Feret hasta llegar la concentración de 0.1 % (V/V) a esta concentración la fibra tratada después de organosolv presenta mayor tamaño promedio a tratamiento de 24 °C. En el tratamiento a 60 °C al igual que con el tratamiento a 24°C con respecto a la cinética de formación de los cristales de oxalato de calcio, se visualizaron cristales de mayor área, perímetro y diámetro de Feret en la solución de fibra después del tratamiento con organosolv en todas las concentraciones de H_2SO_4 . Existe un mejor comportamiento en la formación de los cuerpos cristalinos, obteniendo así cristales desde 0.02 mm² hasta 0.93 mm² en promedio, siendo los cristales de mayor área obtenidos de acuerdo al análisis morfométrico.

CONCLUSIÓN

El proceso de organosolv favoreció a la eliminación del oxalato de calcio en la fibra, por el fraccionamiento de la matriz lignocelulosica, debido a que los cristales de oxalato de calcio quedaron expuestos al tratamiento ácido-térmico teniendo como resultado un mejor rendimiento 54.01%.

Las condiciones óptimas para la eliminación de los cristales de oxalato de calcio fueron someter la fibra a un proceso de organosolv y después a un tratamiento ácido-térmico bajo las siguientes condiciones: 1gr de fibra de bagazo de Agave por 100mL de la solución de H_2SO_4 a 0.1% (V/V) durante 2 horas a 60°C, ya que bajo estos parámetros se obtuvo el mayor rendimiento de eliminación (54.01%) de oxalato de calcio que contiene el bagazo de *AgaveTequila* Weber.

De acuerdo al análisis morfométrico las propiedades de área, perímetro y diámetro de Feret confirmaron la conclusión anterior, ya que al momento de recrystalizar el oxalato de calcio a temperatura ambiente se obtuvieron cristales de mayor tamaño con un área de 0.93 mm², perímetro de 9.87 mm y diámetro de Feret de 2.20 mm.

La presencia del quelante $FeSO_4$ en el proceso ácido-térmico no contribuyó en la eliminación del oxalato de calcio, dado que el sulfato de hierro compite estequiometricamente con el sulfato de calcio para el atrapamiento de los iones libres de calcio, por lo tanto se obtuvieron menor eficiencias de extracción con el uso del agente quelante en comparación con los demás tratamientos.

REFERENCIAS

Arthur I. Vogel. 1960. Química analítica cuantitativa Volumen I. Volumetría y Gravimetría. Editorial Kapelusz. pp 198-205.

Chum, H., Johnson, D., Black, S. (1990). Organosolv Pretreatment for enzymatic hydrolysis of poplars. 2. Catalyst effects and the combined severity parameter. *Industrial Engineering of Chemical Research.*, 29: 156-162.

Franceschi V R y Horner H T (1980) Calcium oxalate crystals in plants. *BotRev*46: 361-427.

Gallaher R N (1975). The occurrence of calcium in plant tissue as crystals of calcium oxalate. *Coom Soil Sci Plant Anal*, 6: 315-321.

Goldfarb S (1994). Diet and Nephrolithiasis. *Annu. Rev. Med.*, 45: 235-243.

Horner H T y Wagner B L (1995). Calcium oxalate formation in higher plants. En: Calcium oxalate in biological systems. Editor: Khan S R CRC Press Boca Raton Fl. pp 53-72.

James, C.S. (1999). Analytical Chemistry of Foods: An Aspen Publication, Gaithersburg, Maryland. pp 233-237.

Stewart C S, Duncan S H y Cave D R (2004). Oxalobacterformigenesand its role in oxalate metabolism in the human gut. *FEMS Microbiol. Lett* 230: 1-7.

Quintana, V.. M., 2011. Aprovechamiento integral del bagazo de la piña de Agave tequilana Weber: Caracterización de fracciones lignocelulósicas obtenidas por un proceso organosolv. Tesis de maestría. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos-IPN. México.