

## EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DE CAFEÍNA Y ÁCIDO CLOROGÉNICO DE PULPA DE BENEFICIO HÚMEDO DE CAFÉ

J.M. Peña-Aguilar<sup>b</sup>, B. Murúa-Pagola<sup>a</sup>, M. Santos-Basurto, R. Reynoso-Camacho<sup>a</sup>, S.J. Romero-Gómez<sup>b</sup>, M.E. Vázquez-Barrios<sup>a</sup>, S.L. Amaya-Llano<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Facultad de Química, Ing. Química en Alimentos, Universidad Autónoma de Querétaro. <sup>b</sup> Facultad de Contaduría y Administración, Laboratorio de Gestión Tecnológica e Innovación, Universidad autónoma de Querétaro. samaya@uaq.mx

### RESUMEN:

La pulpa de café es uno de los principales subproductos derivados del procesamiento húmedo del café. El desecho de la pulpa sin tratamiento causa severos problemas de contaminación ambiental. El objetivo de este trabajo fue extraer cafeína y ácido clorogénico (importante antioxidante) a partir de pulpa de café húmeda y seca con diferentes sistemas de solventes y temperaturas de extracción y proponer una metodología de purificación de ambos compuestos. Se llevaron a cabo extracciones con agua a 80°C y mezclas de etanol:agua (20:80, 40:60 y 60:40) a 78°C, durante 5, 10, 20, 40 y 60 minutos. Se extrajo mayor cantidad de cafeína en pulpa seca con etanol:agua (40:60) y de ácido clorogénico con etanol:agua (60:40). Para pulpa húmeda se obtuvo mayor contenido de ambos compuestos con etanol:agua (60:40). De extractos de pulpa húmeda acuosos se obtuvieron 18 mg de cafeína/g con un 87% de pureza. De ácido clorogénico se obtuvieron 8 mg/g (85% puro); de extractos etanólicos se obtuvieron 2.7 mg de polvo/g (95% puro). A partir de pulpa seca se obtuvieron 21 y 16 mg de polvo/g con etanol:agua (60:40) y agua, con 62 y 71% de pureza respectivamente. Se obtuvieron compuestos de alta pureza con alto valor agregado.

### ABSTRACT:

Coffee pulp is one of the principal byproducts of wet processed coffee. Its disposal in nature, without any treatment, causes severe environmental pollution. The objective of this study was to obtain caffeine and chlorogenic acid (an important antioxidant) from wet and dried coffee pulp with different solvents and extraction temperatures and suggest a purification methodology for both compounds. Water extractions were carried out at 80°C and ethanol:water (20:80, 40:60 and 60:40) at 78°C for 5, 10, 20, 40 and 60 minutes. The largest amount of caffeine from dried pulp was obtained with ethanol:water (40:60), and chlorogenic acid with ethanol:water (60:40). From wet pulp the largest contents of both compounds were obtained with ethanol:water (60:40). Aqueous extracts from wet pulp rendered 18 mg of caffeine/g (87% of purity) and 8 mg/g (85% of purity); ethanolic extracts rendered 2.7 mg of chlorogenic acid/g (95% of purity). From dried coffee pulp, 21 and 16 mg of chlorogenic acid/g were obtained with ethanol:water (60:40) and water respectively with 62 and 71% of purity. Compounds of high level of purity were obtained which represent products of high added value.

**Palabras clave:** ácido clorogénico, cafeína, purificación

**Key words:** caffeine, chlorogenic acid, purification

**Área:** Otros. Aprovechamiento de subproductos agrícolas para la producción de compuestos de alto valor agregado.

### INTRODUCCIÓN

El café es una de las bebidas más populares en el mundo y se deriva de más de 1500 sustancias químicas, 850 volátiles y 700 solubles. Cuando se lleva a cabo un proceso de extracción de café en agua, la mayoría de los compuestos hidrofóbicos, incluyendo aceites, lípidos, triglicéridos y ácidos grasos permanecen en el grano, así como carbohidratos insolubles entre los que se encuentran la celulosa y varios azúcares indigeribles. La lignina estructural, fenoles protectores y los aceites productores del aroma del café se encuentran también presentes en el grano. Existen tres especies de café que son la más comunes: robusta, arabica y liberica. 75-80% del café producido alrededor del mundo es de arabica y 20% es robusta. (Central Coffee Research Institute, 2000).

La pulpa de café es uno de los principales subproductos derivados del procesamiento húmedo del café, la cual constituye casi el 40% del peso húmedo de la cereza de café, siendo el principal subproducto de la explotación industrial de éste; es rica en carbohidratos, proteínas, aminoácidos, sales minerales, taninos, polifenoles y cafeína. Los polifenoles y la cafeína han sido reportados como factores anti nutricios en alimentación animal, por tanto la pulpa de café tiene que ser pre-tratada antes de su uso. El desecho de la pulpa de café, producto de la fermentación, causa severos problemas de contaminación ambiental, debido a la putrefacción de materia orgánica, por lo cual es esencial dar un tratamiento a este desecho y buscar alternativas de aprovechamiento a través de la separación de productos de valor agregado tales como la cafeína y el ácido clorogénico. (Padmapriya y col. 2013). Los compuestos fenólicos que contiene, han recibido una considerable atención debido a sus efectos benéficos en la salud humana por su alta capacidad antioxidante (Mussato y col., 2011).

El objetivo de este trabajo fue realizar pruebas de extracción de cafeína y ácido clorogénico a pulpa de café húmeda y seca con diferentes sistemas de solventes y proponer una metodología de purificación de ambos compuestos, para obtener productos de alto valor agregado. Se llevaron a cabo extracciones con agua 80°C y diferentes proporciones de etanol:agua (20:80, 40:60, 60:40) a 78°C a diferentes tiempos de extracción (5, 10, 20, 40 y 60 minutos). Los mejores sistemas de solventes utilizados fueron etanol:agua (40:60 y 60:40), tanto para extracciones a partir de pulpa húmeda como de pulpa seca. A partir de los mejores resultados de extracción se seleccionaron varios tratamientos para llevar a cabo la purificación tanto de cafeína como de ácido clorogénico.

Se observó que a mayor rendimiento de ácido clorogénico se consiguió un menor grado de pureza. Los rendimientos de este compuesto a partir de pulpa húmeda fueron menores pero con mayor pureza que los obtenidos a partir de los extractos de pulpa seca. La pulpa de café puede ser utilizada para la extracción de compuestos de alto valor agregado con un nivel alto de pureza.

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **Extracción de cafeína y ácido clorogénico a partir de pulpa seca y pulpa húmeda de café**

Se utilizó agua y etanol:agua como solventes de extracción de acuerdo a las proporciones indicadas en la tabla I. Las muestras de pulpa seca fueron hidratadas durante una hora antes de la extracción.

<b>Tabla I.</b> Condiciones de extracción de ácido clorogénico y cafeína de pulpa seca y pulpa húmeda de café							
Solvente	Proporción pulpa:solvente	Extracción					
		Temperatura (°C)	Tiempo (min)				
Agua	1:20	80	5	10	20	40	60
Etanol:Agua 60:40	1:20	78	5	10	20	40	60
Etanol:agua 40:60	1:20	78	5	10	20	40	60

### **Purificación de cafeína y ácido clorogénico a partir de extractos de pulpa de café**

Para las pruebas de purificación de ácido clorogénico se partió de los extractos obtenidos con una relación 1:10 pulpa:solvente a partir de pulpa húmeda, y 1:20 a partir de pulpa seca. Se utilizó agua como solvente de extracción a 80 °C (durante 10 minutos para pulpa seca y 20 minutos para pulpa húmeda). Las extracciones con etanol:agua (60:40) se llevaron a cabo por 10 minutos para pulpa seca, mientras que para pulpa húmeda se utilizaron proporciones de 20:80 y 40:60 durante 5 y 40 minutos respectivamente. Se purificó la cafeína únicamente a partir del extracto acuoso, mediante extracciones sucesivas con diclorometano. La purificación de ácido clorogénico se llevó a cabo mediante extracciones sucesivas con acetato de etilo de acuerdo a lo reportado por Suárez-Quiroz y col. (2014).

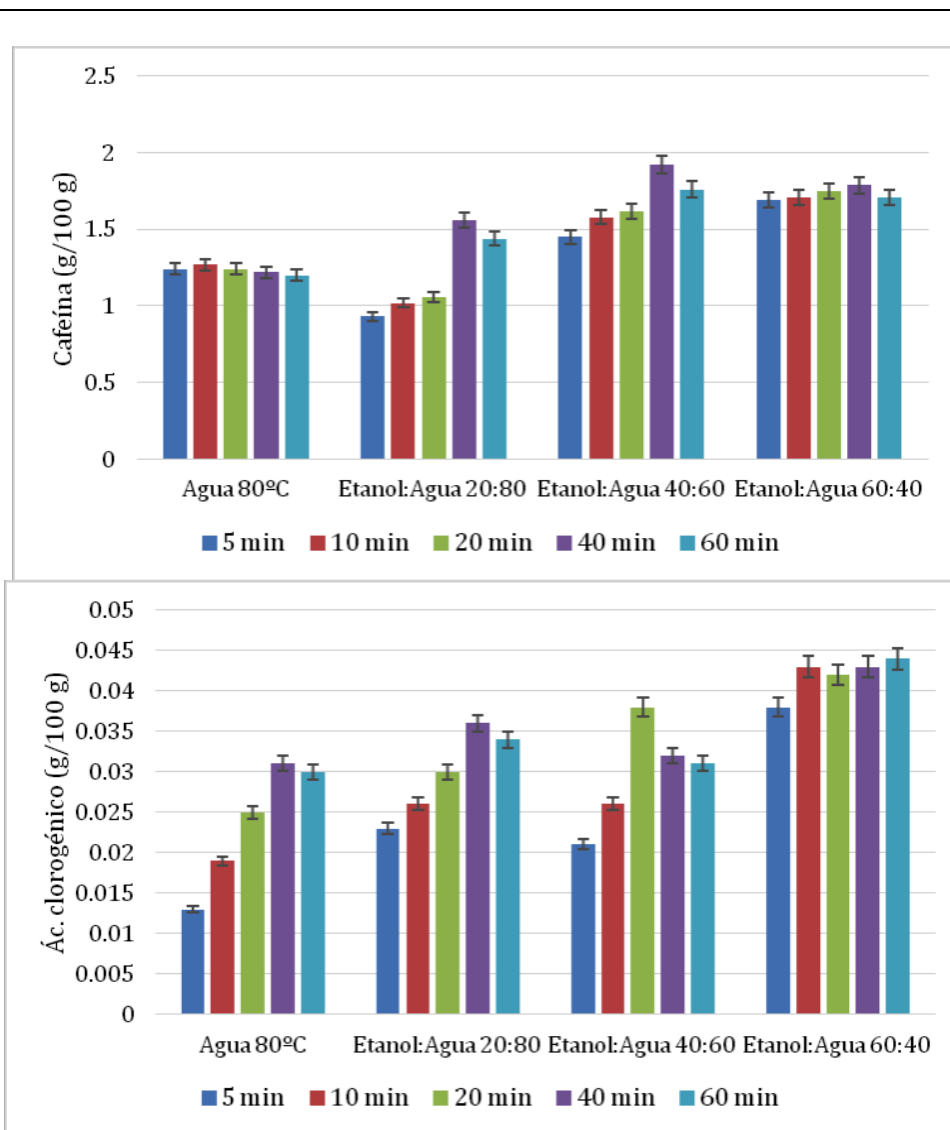
### **Cuantificación de cafeína y ácido clorogénico**

Los análisis de HPLC de los productos de extracción y purificación se llevaron a cabo en un cromatógrafo de líquidos (Agilent Technologies 1200 Series) acoplado a un detector UV-VIS (Agilent Technologies). La separación cromatográfica se realizó en una columna Phenomenex ODS-C18 (150 x 4.6 mm), 4 µm de espesor de fase, de acuerdo a las siguientes condiciones: Inyección de muestra 20 µL, flujo de 1 mL/min, siendo la fase móvil: Solvente A: Agua:Ácido Fórmico (98:2), Solvente B: Metanol, con los siguientes gradientes: 0 min 10%B, 7 min 20% B, 10 min 30% B, 15 min 40% B, 20 min 45% B, 25 min 70% B, 27 min 70% B, 28 min 10% B, 30 min 10 % B. Finalmente se llevaron a cabo lecturas a una longitud de onda de 280 nm para cuantificación de cafeína y 320 nm para cuantificación de ácido clorogénico. Tanto el ácido clorogénico y la cafeína fueron identificados comparando con los tiempos de retención de los estándares puros.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En la figura 1 se presentan los resultados de extracción de cafeína y ácido clorogénico a partir de pulpa seca con agua a 80°C y las tres proporciones de solventes etanol:agua a diferentes tiempos de extracción. Para cafeína, con agua las

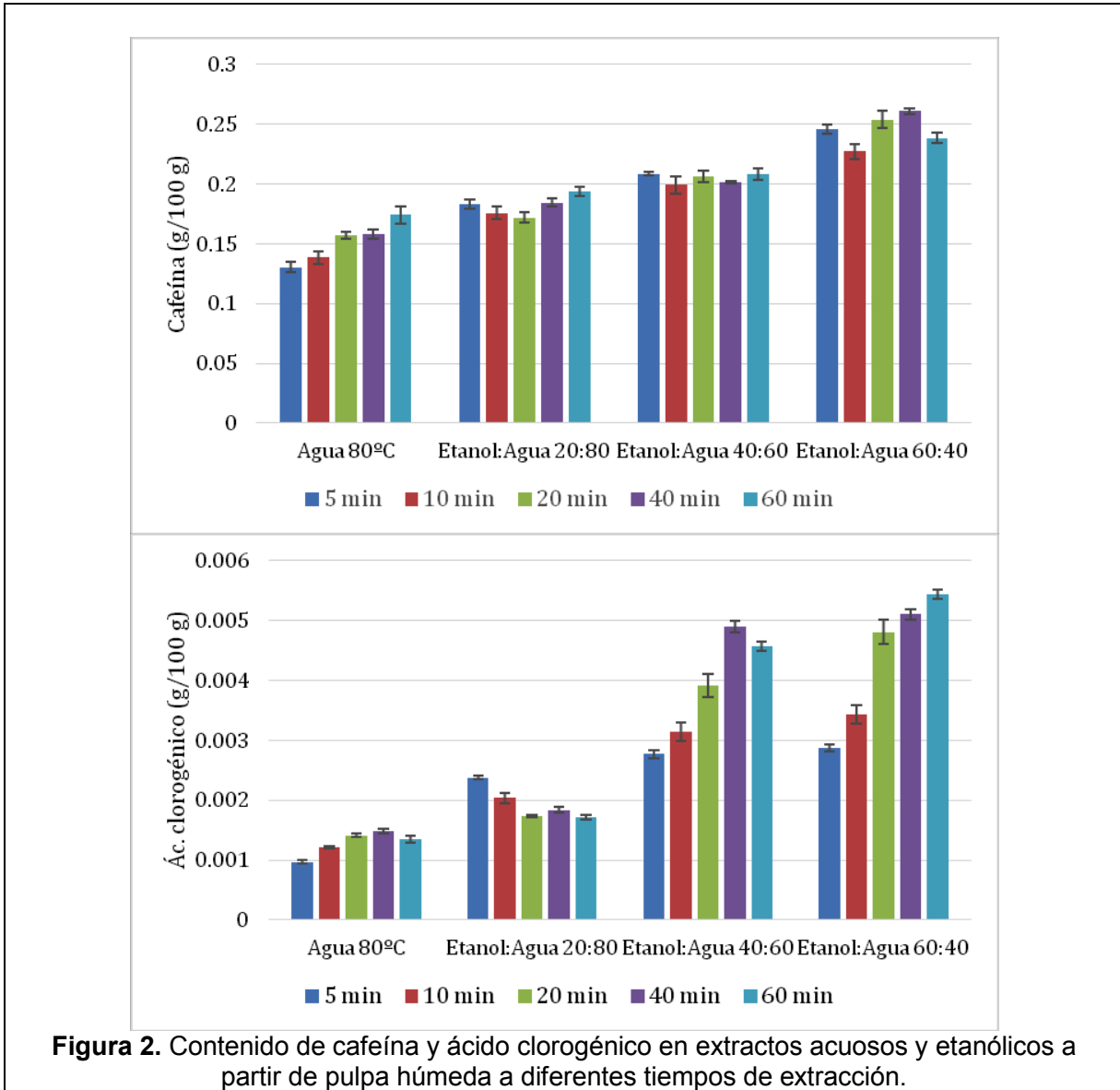
concentraciones fueron muy similares para todos los tiempos determinados y ligeramente menores que los obtenidos con las mezclas de etanol:agua. Para la mezcla de solventes de etanol-agua, se observaron tendencias muy similares en los tres sistemas de solventes. Los mayores rendimientos se presentaron con etanol:agua (40:60) a los 40 minutos de extracción, para etanol:agua (60:40) en todos los tiempos. Los mejores rendimientos de extracción se observan en los extractos etanólicos con una proporción de 60:40.



**Figura 1.** Contenido de cafeína y ácido clorogénico en extractos acuosos y etanólicos a partir de pulpa seca a diferentes tiempos de extracción.

En la figura 2 se muestran los contenidos de cafeína y ácido clorogénico de extractos a partir de pulpa húmeda. Se observa que el rendimiento de cafeína es mayor con el solvente etanol:agua en una proporción de 60:40. Con agua y los otros dos sistemas

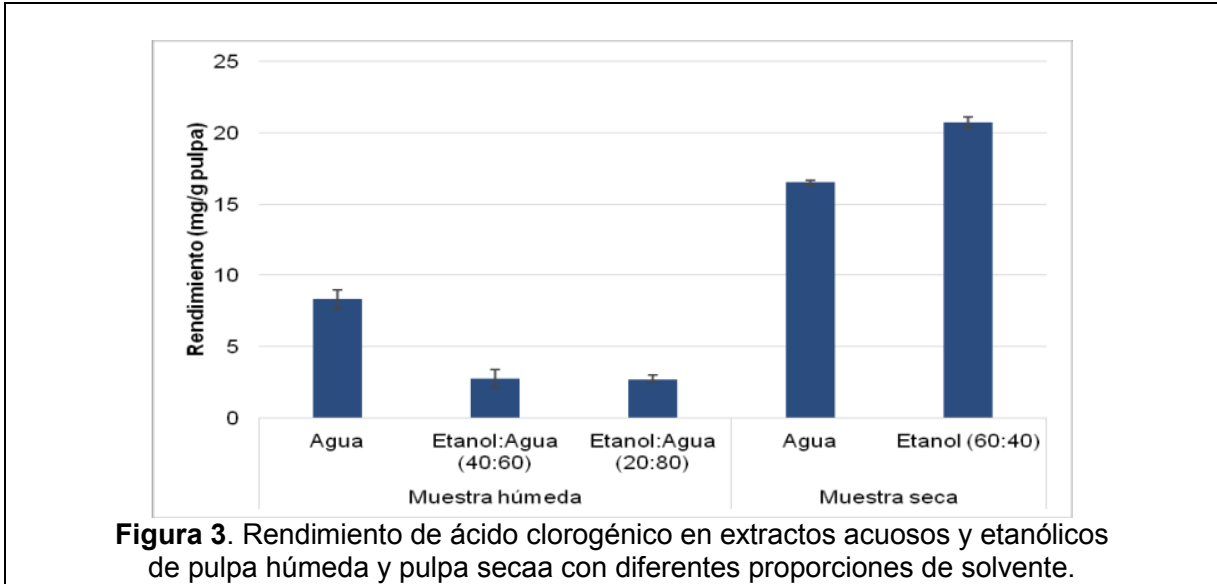
etanólicos los resultados fueron similares. Para ácido clorogénico los dos sistemas de etanol:agua de 40:60 a 40 minutos de extracción y 60:40 a 40 y 60 minutos de extracción dieron los mejores rendimientos de este compuesto.



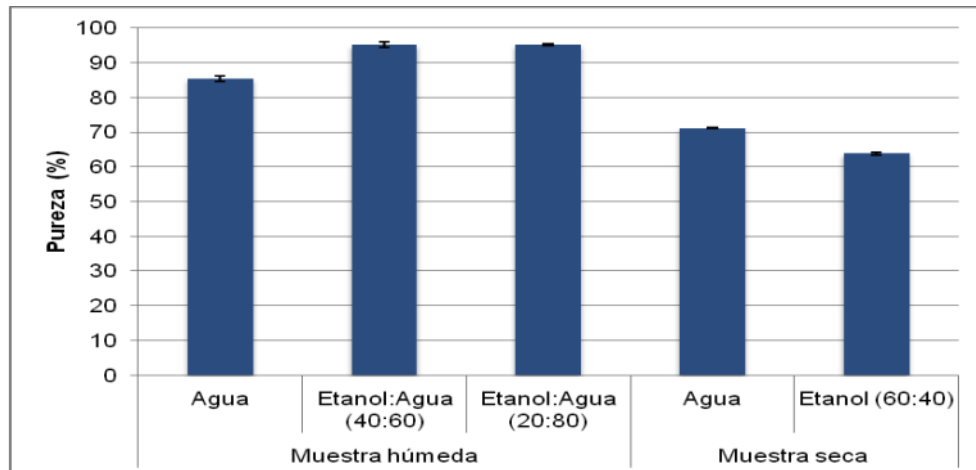
**Figura 2.** Contenido de cafeína y ácido clorogénico en extractos acuosos y etanólicos a partir de pulpa húmeda a diferentes tiempos de extracción.

De las extracciones seleccionadas para la pulpa húmeda se obtuvo una mayor extracción empleando agua como solvente de hasta 8 mg por gramo de pulpa, a diferencia de las extracciones etanólicas en las que se obtuvo un rendimiento promedio de 2.7 mg de ácido clorogénico por gramo de pulpa. Por otra parte, en los extractos de pulpa seca se observó un comportamiento contrario. El extracto etanólico mostró un mayor rendimiento que el extracto acuoso, de 21 y 16 mg por gramo de pulpa respectivamente (Figura 3). Al tratarse de muestra seca, era de

esperarse que el rendimiento de extracción fuera mayor que en la pulpa húmeda como se observa en los gráficos.



En la figura 4 se muestran las purezas de los compuestos extraídos. Comparando la figura 3 y 4 se observa que a mayor rendimiento la pureza del compuesto fue menor, sin embargo las purezas conseguidas fueron muy altas en las muestras de pulpa húmeda, lo que representa una posibilidad viable de uso de un desecho de la industria del café.



**BIBLIOGRAFÍA**

- Padmapriya, R., Tharian, J. A. & Thirunalasundari, T. (2013). Coffee waste management – An overview. *Int. J. Curr. Sci.* 9:E 83-91.
- CCRI (2000). Central Coffee Research Institute, Karmataka, India.
- Suárez-Quiroz, M.L., Campos-Alonso, A., Valerio-Alfaro, G., González-Ríos, O., Villeneuve, P. y Figueroa-Espinoza, M. C. (2014). Isolation of green coffee chlorogenic acids using activated carbon. *Journal of Food Composition and Analysis.* 33:55-58.
- Mussatto, S. I., Ballesteros, L. F., Martins, S. & Teixeira, J.A. (2011). Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. *Separation and Purification Technology.* 83, 173-179.