

T-346

Fsp
INCAP
T-216
C.1



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

INSTITUTO DE NUTRICION DE CENTROAMERICA Y PANAMA

(INCAP)



***FERMENTACION SOLIDA
DE LA
PULPA DE CAFE***

WALTER PENALOZA IZURIETA

CENTRO DE ESTUDIOS SUPERIORES EN NUTRICION Y CIENCIAS DE ALIMENTOS

(CESNA)

CURSO DE POSTGRADO EN CIENCIAS Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Guatemala. Diciembre de 1981

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA
INSTITUTO DE NUTRICION DE CENTRO AMERICA Y PANAMA

FERMENTACION SOLIDA DE LA PULPA DE CAFE

Tesis elaborada por

WALTER PEÑALOZA IZURIETA

Previo a optar al grado de

M A E S T R O

(Magister Scientifical)

CURSO DE POSTGRADO EN CIENCIAS Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

CENTRO DE ESTUDIOS SUPERIORES EN NUTRICION Y CIENCIAS DE ALIMENTOS

(C E S N A)

Guatemala, Diciembre de 1981

INCAP T-346

**JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA
DE LA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

Decano	Lic. Leonel Carrillo R.
Vocal Primero	Dr. José Héctor Aguilar
Vocal Segundo	Lic. Francisco Monterroso
Vocal Tercero	Lic. Justo Comas Fuxet
Vocal Cuarto	Br. Guido Arreola
Vocal Quinto	Br. Erick Juárez
Secretario	Lic. Carlos Posada

Noviembre 23, 1981

COMITE ASESOR DE TESIS

Dr. Mario R. Molina

Dr. Luiz G. Elfas

Dr. Roberto Gómez Brenes

Dr. Ricardo Bressani

DEDICO ESTA TESIS

A MIS PADRES

A MI HIJA

A MI ESPOSA

A MIS HERMANOS

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Mario Roberto Molina por la asesoría brindada al presente trabajo.

A los profesionales que integraron el Comité Asesor de tesis.

A los profesionales y personal técnico de la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del INCAP.

Al personal de la División de Estadística del INCAP.

A mis compañeros y amigos

RECONOCIMIENTO

Al Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá

A la Universidad de San Carlos de Guatemala

**Al International Development Research Centre de Canadá por
el financiamiento de mis estudios en el CESNA**

CONTENIDO

I.	INTRODUCCION	1
II.	REVISION DE LITERATURA	2
III.	OBJETIVOS	20
IV.	SIGNIFICADO DEL ESTUDIO	21
V.	MATERIALES Y METODOS	22
VI.	RESULTADOS	29
VII.	DISCUSION	36
VIII.	CONCLUSIONES	41
IX.	RECOMENDACIONES	42
X.	RESUMEN	43
XI.	BIBLIOGRAFIA	45
XII.	APENDICES	51

LISTA DE CUADROS

- CUADRO 1 PRODUCCION DE CAFE Y DE PULPA DE CAFE
- CUADRO 2 COMPOSICION DE LA PULPA DE CAFE
- CUADRO 3 FORMULACION PORCENTUAL DE DIETAS BASALES USADAS EN EXPERIMENTOS CON POLLOS Y RATAS
- CUADRO 4 EFECTO DE MOHO, HUMEDAD INICIAL Y TEMPERATURA DE FERMENTACION SOBRE EL CONTENIDO DE AMINOACIDOS BASICOS EN PULPA DE CAFE FERMENTADA
- CUADRO 5 EFECTO DE MOHO, HUMEDAD INICIAL Y TEMPERATURA DE FERMENTACION SOBRE EL CONTENIDO DE AMINOACIDOS BASICOS EN PULPA DE CAFE FERMENTADA
- CUADRO 6 EFECTO DE MOHO, HUMEDAD INICIAL Y TEMPERATURA DE FERMENTACION SOBRE LA PERDIDA DE MATERIA SECA EN LA FERMENTACION SOLIDA DE PULPA DE CAFE
- CUADRO 7 EFECTO DE MOHO, HUMEDAD INICIAL Y TEMPERATURA DE FERMENTACION SOBRE EL pH FINAL DE LA PULPA FERMENTADA
- CUADRO 8 EFECTO DE MOHO, HUMEDAD INICIAL Y TEMPERATURA DE FERMENTACION SOBRE LA HUMEDAD FINAL DE LA PULPA FERMENTADA
- CUADRO 9 EFECTO DE MOHO Y TEMPERATURA DE FERMENTACION SOBRE EL CONTENIDO DE CAFEINA EN PULPA FERMENTADA
- CUADRO 10 CINETICA DE FERMENTACION SOLIDA DE A. NIGER EN PULPA DE CAFE
- CUADRO 11 COMPOSICION DE AMINOACIDOS EN PULPA DE CAFE SIN FERMENTAR Y FERMENTADA A VARIOS TIEMPOS
- CUADRO 11A COMPOSICION PORCENTUAL DE AMINOACIDOS EN LA PROTEINA DE PULPA DE CAFE SIN FERMENTAR Y FERMENTADA A VARIOS TIEMPOS
- CUADRO 12 COMPOSICION DE PULPA DE CAFE FERMENTADA EN ESTADO SOLIDO Y SIN FERMENTAR
- CUADRO 13 GANANCIA EN PESO, CONSUMO DE ALIMENTO Y EFICIENCIA ALIMENTICIA EN POLLOS DE ENGORDE, ALIMENTADOS CON RACIONES CONTENIENDO 10% DE PULPA DE CAFE FERMENTADA Y SIN FERMENTAR
- CUADRO 14 GANANCIA EN PESO, CONSUMO DE ALIMENTO Y EFICIENCIA ALIMENTICIA EN RATAS, ALIMENTADAS CON RACIONES CONTENIENDO 10% DE PULPA DE CAFE FERMENTADA Y SIN FERMENTAR

LISTA DE GRAFICAS

- GRAFICA 1 EQUIPO DE FERMENTACION SOLIDA
- GRAFICA 2 EFECTO DE MOHO Y HUMEDAD INICIAL DEL SUSTRATO SOBRE LA FERMENTACION SOLIDA DE PULPA DE CAFE POR 67 HORAS A 35°C
- GRAFICA 3 INFLUENCIA DE LA HUMEDAD INICIAL Y DE LA TEMPERATURA DE FERMENTACION SOBRE EL CRECIMIENTO DE A. NIGER DURANTE 67 HORAS EN PULPA DE CAFE
- GRAFICA 4 CINETICA DE FERMENTACION SOLIDA EN PULPA DE CAFE CON A. NIGER EN FUNCION DEL CONTENIDO DE AMINOACIDOS BASICOS
- GRAFICA 5 VARIACIONES DE pH Y PERDIDA DE MATERIA SECA EN LA FERMENTACION SOLIDA DE PULPA DE CAFE CON A. NIGER
- GRAFICA 6 RELACION ENTRE CONTENIDO DE AMINOACIDOS BASICOS Y PERDIDA DE MATERIA SECA
- GRAFICA 7 RELACION ENTRE CONTENIDO DE AMINOACIDOS BASICOS Y pH FINAL
- GRAFICA 8 GANANCIA EN PESO DE POLLOS EN CRECIMIENTO ALIMENTADOS CON RACIONES QUE INCLUYEN 10% DE PULPA DE CAFE FERMENTADA Y SIN FERMENTAR
- GRAFICA 9 GANANCIA EN PESO DE RATAS ALIMENTADAS CON RACIONES QUE INCLUYEN 10% DE PULPA DE CAFE FERMENTADA Y SIN FERMENTAR

I. INTRODUCCION

Diversos organismos internacionales han resaltado constantemente la falta de fuentes de proteínas y los problemas de desnutrición que enfrentan los países del tercer mundo, en donde las comunidades rurales son los sectores más afectados. Paradójicamente, en este grupo de países las pérdidas post-cosecha son altas y el grado de aprovechamiento de los sub-productos es prácticamente nulo, por falta de tecnología y de infraestructura básica.

Los residuos de la agricultura y de la agro-industria son, en general, muy pobres en proteína, pero muy ricos en materiales celulósicos y en carbohidratos menores, que en condiciones apropiadas para el crecimiento de microorganismos pueden convertirse en biomasa o en fuentes proteícas.

La industria de la proteína unicelular es una gran contribución a la lucha contra el hambre, sin embargo, su implementación exige fuerte inversión, tecnología avanzada, manejo de grandes volúmenes de materiales y alta capacidad de comercialización, condiciones de las que no disponen los países subdesarrollados y menos aún los sectores rurales marginados.

Actualmente se insiste en la búsqueda de tecnologías apropiadas para reducir las pérdidas posteriores a la cosecha, para generar biogas y para producir alimentos con mejor valor nutritivo.

En opinión del "Joint World Hunger-National Resources Programme", el aumento en la disponibilidad de fuentes proteicas y de alimentos a nivel rural mejoraría la producción animal y el desarrollo de los sectores agrícolas, obteniéndose mejores condiciones de vida para los campesinos.

La fermentación de sustrato sólido ha sido considerada en los últimos años como una alternativa favorable para la producción de nuevas fuentes de proteína en los países menos desarrollados.

La presente investigación está dirigida a evaluar el posible mejoramiento del valor nutritivo de la pulpa de café, elevando su contenido proteico y disminuyendo el de carbohidratos complejos mediante fermentación sólida, incrementando así las posibilidades de su uso en altas proporciones en la alimentación de animales monogástricos.

II. REVISION DE LITERATURA

A. Pulpa de Café

I. Generalidades

En Centro América, como en varias regiones del mundo, el café es el principal producto agrícola que contribuye a la economía nacional. El beneficio del fruto de café se efectúa por el método húmedo o por el método seco. En Guatemala y América Central es usual el método húmedo, mientras que en Brasil prevalece el método seco; en Ecuador se practica el método seco, aunque existe la tendencia a adoptar el método húmedo (39).

La pulpa de café es uno de los subproductos del fruto de café. En el beneficio por el método húmedo, Aguirre y col. (1) y Bressani (10) describen que la pulpa de café se origina por la separación de la pulpa de las semillas de café durante el despulpado comercial.

La pulpa de café representa aproximadamente el 29% en base seca del fruto de café, o el 43% en base húmeda (10). En el Cuadro 1 se muestra la producción de café y las estimaciones correspondientes de pulpa de café, que demuestran la gran disponibilidad de este residuo de muy limitado uso en la actualidad y que normalmente se descarga en el agua de los ríos provocando serios problemas de contaminación ambiental.

2. Composición química y valor nutritivo

La creciente competencia entre el hombre y los animales por los alimentos, y la alta disponibilidad de la pulpa de café que plantea problemas de contaminación, han estimulado el estudio de la pulpa de café como fuente potencial de nutrientes. En este sentido, Elías (1978) presenta una amplia revisión de las investigaciones efectuadas sobre la composición química proximal de la pulpa de café. Es bien conocido que la variedad, el suelo, la región, las condiciones de cultivo, el estado de madurez y otros factores influyen sobre la composición química. En el Cuadro 2 se informan los valores representativos de los componentes de la pulpa; se destaca el alto contenido de agua, 79.4%, que representa una de las desventajas en el manejo y utilización de este subproducto. El material seco contiene 11.2% de proteína cruda, 20.0% de fibra cruda, 7.8% de ceniza y 3.0% de extracto etéreo.

Bressani y col. (1972) informan que la proteína de la pulpa, aunque deficiente en aminoácidos azufrados, presenta una composición similar a las proteínas de la harina de soya y la harina de algodón; particularmente el alto contenido de lisina puede ser de interés en comparación con la proteína de maíz. Sin embargo, el nitrógeno no proteico (cafeína, trigonelina, niacina, purinas, pirimidinas y nitrógeno inorgánico) representa el 40% de la proteína cruda (21), por consiguiente, podría ser un factor negativo en la disponibilidad biológica de ésta, de la cual se conoce muy poco.

3. Posibles usos de la pulpa de café

La pulpa de café puede ser objeto de innumerables usos:

a. Fertilizante orgánico

Aunque en pequeña escala, la pulpa de café se usa como acondicionador del suelo en las plantaciones de café. Bressani (9) informa que este material por su contenido de materia orgánica, nitrógeno y potasio puede ser un fertilizante orgánico de mucho valor, especialmente en los cafetales. Existen dos métodos de aplicación, el seco cuando se dispone de pulpa seca, y el húmedo cuando la pulpa fresca se incorpora directamente a los cafetos. El alto contenido de agua en la pulpa y el costo de mano de obra son los principales obstáculos que limitan su uso como fertilizante orgánico.

b. Fuente de pectinas, biogas y otros productos

La pulpa de café contiene aproximadamente 6.5% (b.s.) de sustancias pécticas totales (23) y bien podría ser fuente de pectinas, aunque con desventaja frente a la concentración de pectinas en el mucflago de café de 35.8% (b.s.). Estas posibilidades requieren de mayor investigación (41, 49).

Por fermentación anaeróbica de la pulpa de café se puede producir gas biológico, y el residuo se usaría como fertilizante orgánico. Calle (1955) informó que 30 kg de pulpa mezclada con estiércol de vaca, producen 670 litros de metano en 72 días.

También se estudió la extracción de proteínas de la pulpa debido a su atractivo patrón de aminoácidos (9, 12); no obstante, las cantidades de proteína recuperadas fueron muy bajas aún con tratamientos enzimáticos.

Se cree que los taninos recubren la proteína impidiendo su extracción y precipitación. Por otra parte, los fenoles libres se oxidan a quinonas, las que reaccionan con los grupos esenciales de la proteína. Los bajos rendimientos podrían explicarse también si se tiene presente que la fracción proteica representa sólo el 60% del nitrógeno total y que, además, una buena parte de proteína (30%) se encuentra en forma lignificada (23); por consiguiente, es de esperarse que la disponibilidad biológica de proteína en la pulpa sea muy baja.

Los estudios de Molina y col. (43) y Cuevas (21) demuestran la factibilidad de extracción y recuperación de cafeína. Este alcaloide de alto precio en el mercado tiene variadas aplicaciones en las industrias de alimentos y farmacéutica. La decafeinización de la pulpa de café se efectúa por percolaciones sucesivas con agua que remueven el 99% de la cafeína y el 29% de los sólidos solubles. Los sólidos residuales contienen menos factores tóxicos y la cafeína puede recuperarse a partir de la solución extractante. La aplicación de este proceso en la industria está limitado por el costo de la energía y el gran volumen de agua requerido.

La hidrólisis de la pulpa para producir melaza y la fermentación para obtener alcohol (9), son ejemplos de posibles productos derivados de la pulpa de café.

c. Alimentación animal

En nutrición animal se han efectuado varios experimentos tendientes a la incorporación de pulpa de café en raciones para diferentes tipos de animales: rumiantes, cerdos, pollos y otros. Cabezas y col. (1978) resumen los avances sobre el potencial y las limitaciones de la pulpa de café en la alimentación de rumiantes. Se informa que uno de los primeros inconvenientes es la renuencia de los animales al consumo de este material cuando es parte principal de la ración, posiblemente debido a la baja palatabilidad de la pulpa y a factores adversos a la digestión y metabolismo en los animales. Por ejemplo, se informa una digestibilidad de 27% de la proteína, pero además de la digestibilidad, la absorción y retención de nitrógeno disminuyen en las raciones que contienen más de 20% de pulpa. La sintomatología encontrada en bovinos alimentados a base de pulpa, se caracteriza por rendimientos pobres, timpanismo, inflamación de las extremidades, aparición de llagas y úlceras en la piel (15).

Como posibles sustancias responsables de estos efectos que se analizarán más adelante se señala a la cafeína, taninos, polifenoles y potasio. En conclusión, se recomiendan niveles máximos de 20 - 30% de pulpa de café en reemplazo de otros nutrientes para la alimentación de bovinos.

El alto contenido de fibra condiciona el uso de la pulpa en la alimentación de cerdos. Jarquín (1978) analiza los resultados de investigaciones efectuadas en cerdos criollos, Yorkshire y Landrace y, en general, se observó una relación inversa entre ganancia de peso, conversión alimenticia y consumo de alimento con respecto al nivel de pulpa en la formulación. Con 24% de pulpa los animales presentaron dermatitis entre las piernas y en la parte ventral, y aumento del contenido de glucosa y ácidos grasos libres en el suero sanguíneo; estos efectos se atribuyen a la cafeína. En cambio, en cerdos con 16% de pulpa en reemplazo de maíz-soya no se observaron efectos detrimentales, por consiguiente, se supone que a este nivel (16%) la proteína de la pulpa es usada eficientemente, y también que la cafeína, taninos y demás sustancias adversas no interfieren con la utilización de nutrientes en los cerdos.

Las perspectivas de usar pulpa de café, aún a bajos niveles, en la alimentación de pollos y animales monogástricos menores no parecen ser promisorias, según informaciones presentadas por Braham (1978), y Bressani y González (1978). En efecto, la mortalidad de los polluelos aumenta con el nivel de la pulpa en la dieta, y aún con 10% de pulpa el crecimiento fue menor.

En síntesis, las recomendaciones de uso de pulpa de café en nutrición animal se restringen a niveles de 20-30% en dietas para bovinos, 16% en raciones para cerdos, y con precaución, 10% para pollos de carne. En general, niveles mayores a los recomendados provocan renuencia de los animales al consumo de tales raciones, bajos rendimientos, síntomas de toxicidad y a veces la muerte del animal.

4. Factores antifisiológicos de la pulpa de café

Los efectos adversos observados en los animales alimentados con pulpa de café se asocian con la presencia de sustancias con posible actividad antifisiológica: cafeína, taninos, ácido clorogénico, ácido cafeico, potasio, fibra y otros aún desconocidos (8). Sin embargo, hasta el presen-

te no se cuenta con evidencia definitiva sobre la naturaleza, actividad y mecanismo de las sustancias tóxicas de la pulpa, simplemente se ha tratado de establecer alguna relación entre tales sustancias con la patología encontrada en varias especies animales.

Cafeína: Es un alcaloide, estructuralmente conocido como 1,3,7-trimetil xantina, actúa como estimulante del sistema nervioso central y músculo cardíaco, estimula la secreción gástrica de ácido y eleva el nivel de glucosa y ácidos grasos libres en el plasma (Graham, 1978). También ha sido notorio la presencia de diuresis y el aumento de actividad física en ratas y rumiantes alimentados con pulpa de café. En las especies experimentadas, Bressani (8) asocia el aumento de la actividad motora con un mayor gasto de energía, y el estado de diuresis con una mayor excreción de nitrógeno, que fácilmente conducirían a un estado de depleción; estas situaciones serían, al menos en parte, las responsables de los bajos rendimientos en los animales alimentados con pulpa de café.

En ratas se ha observado que dosis mayores al nivel máximo tolerado de cafeína resultan en bajas ganancias de peso, osificación retardada y bajas ingestas de alimentos y líquidos en comparación con el grupo control. En este caso la cafeína se suministró en el agua de bebida a una concentración de 2 g/l. En ratas los niveles máximos tolerados son 100 mg/kg/día para machos y 140 mg/kg/día para ratas hembras (54). El exceso de cafeína en ratas provoca convulsiones y vómito; con ingestas de 35-60 mg cafeína/kg/día durante 26 semanas las ratas no mostraron síntomas de toxicidad, ni retardo en el crecimiento (29). En cambio, en experimentos con dietas que contenían 10-30% de pulpa, la ingesta de cafeína fue aproximadamente 45 mg/kg/día y, sin embargo, hubo retardo en el crecimiento, evidenciándose que la cafeína no es el único compuesto tóxico en la pulpa de café.

Fenoles libres y taninos: Los principales fenoles libres en la pulpa de café son los ácidos cafeico (0.28, - 2.58%), clorogénico (0.18, - 3.16%) y tánico (2.30, - 5.56%) según información de Elías (1978). Los taninos pueden ser hidrolizables y condensables, su contenido en la pulpa varía de 1.8 a 8.56%. Bressani (8) resume la posible acción de los fenoles libres como una interferencia con la digestibilidad de proteína, probablemente debido a reacciones de fenoles libres con aminoácidos y grupos

libres de la proteína, ligándola y disminuyendo su utilización, o a través de combinaciones con los enzimas digestivos. También se especula que los compuestos fenólicos interfieren con la utilización de tiamina y otros nutrientes.

Los polímeros fenólicos o taninos también pueden disminuir la disponibilidad biológica de las proteínas a través de un proceso de inactivación enzimática y por su característica de ligar proteínas (8). Hagerman y Butler (32) informan la existencia de fuertes interacciones entre taninos y proteínas, que dependen especialmente de la composición de las proteínas; así, las proteínas ricas en prolina tienen especial afinidad (hidrofóbica) por los grupos fenólicos de los taninos. Se ha comprobado que la adición de 1.5% de taninos a harina de soya disminuye la disponibilidad de prolina, glicina y ácido glutámico en ratas. Molina y col. (1974) informan altos valores de correlación (0.92 a 0.97) entre la mortalidad en ratas con el contenido de taninos, ácido clorogénico y ácido cafeico en dietas con 50% de pulpa de café. No hubo, en cambio, correlación alguna entre mortalidad y contenido de cafeína en el mismo experimento.

5. Alternativas exploradas para mejorar la utilización de la Pulpa de Café en Nutrición Animal

Los métodos investigados para mejorar el uso de la pulpa de café en nutrición animal, pueden agruparse en físicos, químicos y biológicos.

Métodos físicos: El secado de la pulpa de café puede ser un proceso necesario para reducir los costos de transporte, para evitar el desarrollo de gérmenes indeseables y para asegurar una constante disponibilidad de pulpa de buena calidad. La evidencia presentada por Molina (1978) indica que el secado al sol es todavía el sistema más común y más viable, aunque también podrían usarse otros sistemas como el secado rotatorio. El secado en condiciones normales no afecta el valor nutritivo de la pulpa.

La percolación de la pulpa de café para la extracción de cafeína aumentó en 100% la ganancia en peso de las ratas y también aumentó el consumo y la eficiencia del alimento (21, 43); sin embargo, los resultados fueron menores a los del grupo control.

Métodos químicos: Gómez-Brenes (1978) informa sobre investigaciones en las que se usó hidróxido de sodio, hidróxido de calcio y bisulfito de

sodio para el tratamiento de la pulpa con la finalidad de disminuir la actividad de los factores antifisiológicos y, hasta donde se conoce, los resultados de estos tratamientos químicos no son promisorios.

Métodos biológicos: Puesto que la cosecha y el beneficio de café es estacional, el ensilaje, según Murillo (1978) presenta buenas perspectivas para el aprovechamiento de la pulpa. Los silos de fosa permiten obtener productos con menor cantidad de cafeína y taninos, ya que parte de estos compuestos solubles se pierden en el líquido de drenado. Los estudios sobre el valor nutritivo de la pulpa ensilada muestran algunas discrepancias; sin embargo, se afirma que la pulpa ensilada no es nutricionalmente peor que la pulpa fresca deshidratada (45), por consiguiente, el ensilaje puede ser un método apropiado para la conservación de la pulpa de café destinada a la alimentación de animales.

Como señala Edwards (1979) la idea de producir proteína a partir de un desecho es muy intrigante, especialmente para los procesadores de café, pues sería una vía para eliminar desechos y, al mismo tiempo, evitaría la contaminación de ríos y lagos cercanos a los beneficios de café.

La pulpa de café es una fuente rica en azúcares pudiendo ser utilizada como medio de cultivo para microorganismos. En este sentido, Bressani (9) informa sobre trabajos de varios investigadores. Por ejemplo, en cultivos de Candida utilis a nivel de planta piloto en infusiones de pulpa se obtuvieron rendimientos próximos a 750 g de levadura seca por 100 kg de fruto de café.

La producción de biomasa fúngica usando las aguas de desecho del beneficio de café presenta algunas ventajas tanto para la fermentación misma como para la recuperación de la biomasa. Según informan Aguirre y col. (1976), los cultivos de Trichoderma harzianum dieron un mejor rendimiento de 0.3 g de masa celular seca por gramo de COD consumido.

El Instituto Centro Americano de Investigación y Tecnología Industrial (ICAITI) en forma conjunta con el "Denver Research Institute" (DRI) investigaron la obtención de subproductos útiles a partir de desechos de beneficios de café y de las industrias licoreras. Cuando se trabajó con aguas de desecho en fermentadores de 5,000 l, la producción de biomasa (T. harzianum) fue muy baja, y por estar diluída, su recuperación fue más difícil.

Con estos antecedentes, el grupo de investigación decidió usar como sustrato el jugo de pulpa de café, en vez de las aguas de desecho. Durante la fermentación los carbohidratos se consumieron en un 80% y el resultado fue una biomasa rica en carbohidratos (38). Las limitantes de esta alternativa son el costo de la energía requerida para concentrar, filtrar y secar la biomasa, y por otra parte se cuestiona la factibilidad económica del proceso puesto que la operación de la planta se limitaría a la temporada de cosecha de café (septiembre a marzo).

B. Fermentaciones en Estado Sólido

1. Generalidades

La fermentación en estado sólido consiste en el crecimiento de microorganismos sobre materiales sólidos (18, 34). Difiere ampliamente de las fermentaciones de materiales sólidos en medios líquidos ya que el agua requerida para la fermentación en sustrato sólido se halla absorbida en la matriz sólida.

Las fermentaciones sólidas ocurren espontáneamente en la naturaleza; la evidencia más común es el enmohecimiento del pan, frutas, vegetales y parte del biodeterioro de alimentos sólidos; por tanto, es un proceso natural cuyo origen está vinculado con la historia del hombre y de la vida.

Cannel y Moo-Young (18) informan que en la cultura china se consideraba un arte la preparación de salsa de soya y productos fermentados de arroz. Las creencias religiosas, que prohíben el consumo de carne, dieron auge a las fermentaciones fúngicas para mejorar el sabor, olor y textura de alimentos vegetales (soya). Entre los productos más consumidos, el Tempeh es popular en Indonesia (40) y el Miso, salsa de soya, Sufu y otros en China y Japón (69), pero la mayor producción en Oriente corresponde al Koji, cuyo uso es análogo al de la malta en Occidente.

Las fermentaciones sólidas también han sido usadas tradicionalmente en Europa, en especial en la fabricación de quesos Roquefort y Camembert (18, 69). Finalmente, en América, Europa y en países como la India se aplican en la descomposición de desechos sólidos (Compost), sea para la obtención de fertilizante orgánico o como base para camas en la producción de hongos comestibles (6, 58, 59).

2. Tipos de fermentación en estado sólido

La literatura informa numerosos sistemas de fermentación en sustrato sólido desde los más simples, donde el material inoculado se envuelve en hojas de banano para fermentar estáticamente, hasta complicados sistemas con agitación y ambiente gaseoso controlado. En términos prácticos, las fermentaciones sólidas se clasifican en dos tipos:

a. Fermentación sólida estática

Los materiales inoculados permanecen en reposo durante la fermentación, tradicionalmente se ha aplicado en la maduración de quesos, en el proceso Koji (18), en la elaboración de Tempeh (40), en el mejoramiento de la calidad nutritiva de la yuca (14, 48) y, últimamente, como método de estudio de fermentaciones sólidas para el enriquecimiento proteico de materiales con alto contenido de almidón (52).

b. Fermentación sólida con agitación

En este grupo se incluye cualquier sistema con remoción o movimiento de los materiales durante la fermentación, usualmente con el fin de mejorar el intercambio gaseoso y el control de la temperatura. Se han usado frascos con agitación (60) con mucho éxito y también agitados controlando los niveles de O_2 y CO_2 para la producción de varias enzimas (4, 5, 44); frascos agitados para la producción de aflatoxina, ocratoxina y otros metabolitos fúngicos (38, 34, 51); tambores rotatorios para la producción de Koji y de mezclas enzimáticas por el proceso Koji (18); mezcladoras de cemento para la conversión de excrementos de ganado mezclado con maíz en alimentos para nutrición animal (35); mezcladora (de panificación) para el enriquecimiento proteico a través del crecimiento del micelio en varios materiales (51, 55) y, finalmente, en la degradación de desechos municipales y agrícolas sólidos se suele amontonar el material y removerlo periódicamente, o se usan sistemas de fermentación sólida o digestores cilíndricos, de torre o una combinación de ambos (19).

3. Aplicaciones de la fermentación en estado sólido

Las aplicaciones más importantes de las fermentaciones sólidas se podrían resumir en las siguientes:

- Degradación de desechos sólidos para la obtención de compost (6, 18);

- Preparación de alimentos más apetecibles (30, 40, 69);
- Producción de enzimas (4, 5, 44, 56);
- Producción de micotoxinas y otros metabolitos (33, 34, 57); y
- Enriquecimiento proteico de alimentos de bajo valor nutritivo (14, 35, 51, 55).

A continuación se revisan las aplicaciones vinculadas directamente con alimentos, excluyendo el proceso para compost.

Preparación de alimentos más apetecibles: Los alimentos de mayor producción en Oriente y que dependen de las fermentaciones sólidas son: Koji, Miso, Salsa de soya, Sake, Sufu, Tempeh y otros.

El Koji se prepara con arroz cocido, arroz con soya, o soya con salvado de trigo, los materiales se esterilizan, se distribuyen en bandejas, se inoculan con A. orizae o R. oligosporus, se mezclan y se deja fermentar por 3 días a 25 - 30°C en condiciones aeróbicas (50). El Koji obtenido se usa como iniciador o intermediario en la fabricación de varios productos:

- Salsa de Soya. La mezcla de soya con trigo tostado se fermenta como en el proceso anterior hasta obtener Koji, luego se añade salmuera y se incuba anaeróticamente a 35 - 38°C por 1 a 3 meses; el líquido se separa y finalmente se refina. Sin embargo, para obtener salsa de soya de excelente calidad (50), se sugiere inocular la mezcla soya-trigo tostado con cultivos de A. orizae, Zigosaccharomyces soyae y Lactobacillus delbruekii para la fermentación en los materiales sólidos.
- Miso. Se obtiene por fermentación sólida anaeróbica de soya mezclada con arroz, como iniciador se usa Koji o esporas de A. orizae (69).
- Sake. Es el vino de arroz obtenido por fermentación anaeróbica de arroz mezclado con Koji.

El Tempeh (40, 69) y el Gari (14, 48) se preparan con soya y yuca respectivamente. Después de la cocción, estos materiales se inoculan con esporas de R. oligosporus, A. orizae, u otros géneros como Mucor y Neurospora, se mezcla, se distribuye en pequeñas porciones que se envuelven en hojas de banano y se fermentan durante 20 a 24 horas. El Tempeh es una

pasta blanca de sabor fresco y agradable que se consume ampliamente en Indonesia, mientras que el Gari es la masa de yuca fermentada con mayor contenido de proteína (incremento de 3%), y con ausencia de glicósidos cianogénicos causantes del sabor amargo.

El Sufu es el queso de soya madurado por fermentación sólida con Actinomyces elegans y Mucor sp. durante 3 a 7 días a 20°C, seguido de un período de maduración lenta de 40 a 60 días (69).

El Ontjom o pastel de maní, el Idli preparado a base de arroz y frijol, y los productos anteriormente descritos son de vital importancia en la dieta de muchos países orientales, en donde la fermentación en estado sólido contribuye enormemente a la mejor utilización de los productos agrícolas.

Producción de enzimas: Actualmente se produce una gran variedad de enzimas, celulasas, amilasas y proteasas, usando la fermentación sólida y particularmente el proceso Koji (18). Los sustratos, normalmente materiales fibrosos tales como salvados de trigo y arroz, se esterilizan, se inoculan con Trichoderma viride (celulasas), A. orizae, R. oligosporus u otro moho seleccionado, y se fermenta a 25 ó 30°C en bandejas o en tambor rotatorio durante 3 días al cabo de los cuales las enzimas se extraen con agua o buffer.

Silman (1980) estudió la producción de galactosidasa e invertasa en salvado de trigo usando A. awamori. La fermentación sólida de alfalfa con cepas fúngicas productoras de celulasas y pectinasas (4) mostró efectos favorables sobre la recuperación de proteínas y digestibilidad de la torta residual. Mudgett y Bajracharya (1980) al estudiar la influencia de la concentración de gases (O_2 y CO_2) sobre la síntesis de enzimas en fermentaciones sólidas de alfalfa, observaron que la recuperación de proteínas dependía del aumento de la actividad enzimática a altas presiones de oxígeno. Estos autores suponen que el metabolismo microbiano es una función del ambiente gaseoso, el cual estaría relacionado con la síntesis de biomasa y producción de enzimas. Se demostró en otro estudio (5) que el enriquecimiento con oxígeno mejora la producción de amilasas y de biomasa, en cambio ^{al} aumentar la concentración de CO_2 disminuye la productividad de ambos productos.

Producción de Micotoxinas: El descubrimiento de la aflatoxina en 1961 despertó el interés sobre los problemas que causan las micotoxinas (25). Para emprender estudios de nivel subletal, nivel tóxico y los efectos de estos compuestos fue necesario producir toxinas en cantidades relativamente grandes. Se ensayó con cultivos en medio líquido a diferentes condiciones pero los resultados fueron insatisfactorios. Hesseltine (34) observó gran producción de aflatoxinas (1.5 g/kg de sustrato) en la fermentación sólida de arroz con A. parasiticus (A. flavus), en un período de 5 a 6 días. La agitación estimuló la producción de aflatoxina. En cambio Silman y col. (1979) obtuvieron un incremento de 1.3 ppm en el contenido de aflatoxina en fermentaciones sólidas de maíz sin inoculación. Esto significa que la flora natural, aún a las mejores condiciones de humedad, aireación y temperatura sintetizan cantidades muy bajas de aflatoxina en comparación con las cepas productoras de este metabolito.

Otra micotoxina de importancia es la Ocratoxina. Los rendimientos más altos de esta toxina corresponden a fermentaciones sólidas de arroz, avena, trigo y maíz, con A. ochraceus y P. viridicatum. En período de 10 a 12 días se acumuló de 1.2 a 1.5 g de ocratoxina por kg de material en cultivos agitados a baja velocidad (1 - 16 rpm) pero en cultivos estacionarios el rendimiento fue de 0.1 a 0.2 g/kg. La Zearalenona también ha sido sintetizada en fermentaciones sólidas (33) con Fusarium moniliforme, sin embargo, es una posibilidad poco conocida.

Enriquecimiento proteico de alimentos: La tecnología de obtención de proteína microbiana se basa en la utilización de fuentes de carbono para la conversión de nitrógeno inorgánico y/o orgánico a proteína mediante el desarrollo de microorganismos.

Hesseltine (35) investigó la potencialidad de conversión del nitrógeno soluble de estiércol de ganado a proteína. La fracción líquida de excrementos diluidos se agregó a maíz quebrantado, hasta alcanzar 35 a 42% de humedad. La fermentación sólida de esta mezcla sin inocular se efectuó en un mezclador estándar de cemento dotado de una entrada de aire. Durante los 3 días de fermentación, la flora natural siguió el siguiente patrón: los coliformes desaparecieron a las 48 hrs. debido al descenso de pH; los estreptococos fecales también disminuyeron; en cambio la población

de levaduras y lactobacilos creció con el tiempo de fermentación. Al final se observó un incremento relativo de 18% en el contenido de aminoácidos y 12% de nitrógeno orgánico, y aunque no se informan datos de la calidad biológica del producto, se afirma que fue fácilmente aceptado por ratas y pollos.

Senez (1978) y Raimbault (1981) informan sobre el enriquecimiento proteico de varios productos aplicando el principio de la fermentación en estado sólido. El método consiste en añadir minerales y suficiente nitrógeno inorgánico a materiales tales como yuca, papas y banano, inocular con esporas de A. niger u otro moho amilolítico y de adecuada composición de aminoácidos, y fermentar por 24 a 30 horas. Estos autores, usando una mezcladora comercial de 10 kg de capacidad y dotada de entrada de aire saturado de agua, informan un aumento de 300 a 750% en el contenido de proteína verdadera, que supera ampliamente a las fermentaciones sólidas tradicionales, con las que se logra aumentos proteicos de 3% únicamente (14).

Cabe resaltar que hasta el momento esta tecnología ha sido ensayada sólo en materiales ricos en almidón y en azúcares fácilmente utilizables, mas no en materiales con alto contenido de carbohidratos estructurales (celulosa, lignina, lignocelulosa y otros); de allí que con este trabajo se investiga por primera vez la posible utilización de sustratos celulósicos en un proceso de fermentación sólida, con el fin de obtener un alimento rico en proteínas. Al no haber literatura pertinente se hará uso de los principios fundamentales que se aplican en este proceso para el tratamiento de sustratos amiláceos. Parte de los fundamentos actuales también están dados por otros procedimientos relativamente semejantes, aunque menos controlados que la fermentación sólida tanto física como microbiológicamente como son el ensilaje, el compost y la producción de setas comestibles (champiñones), los cuales utilizan materiales celulósicos y gozan de una amplia documentación científica (6, 46, 58, 59).

4. Perspectivas de la fermentación en sustrato sólido

Las fermentaciones sólidas presentan algunas ventajas sobre las fermentaciones líquidas tradicionales (18, 35, 51), la mayoría de estas ventajas están asociadas con el bajo contenido de agua requerido en este tipo

de fermentaciones:

- Ocupan menor espacio, equipos menos complejos y el tamaño de las instalaciones también es menor;
- Utilizan medios relativamente simples: granos, tubérculos y frutas, además la preparación en algunos casos abarca sólo quebrantado y/o molienda;
- Se minimizan los riesgos de contaminación bacteriana;
- En general los rendimientos son más altos que en las fermentaciones líquidas;
- Los productos se hallan más concentrados, lo que facilita su recuperación, puesto que se debe tratar menos material y usar menos solvente para la extracción de enzimas y otros metabolitos;
- El producto final se incorpora directamente a la alimentación de animales, o por lo menos el costo de secado disminuye considerablemente;
- La circulación de aire es rápida por los espacios libres entre las partículas del sustrato, el mezclado constante es a veces suficiente;
- Se evita el tratamiento de los efluentes residuales de las fermentaciones líquidas;
- Los sistemas operan eficientemente en condiciones no asépticas; y
- Los procesos pueden funcionar en forma continua.

Entre las principales desventajas de la fermentación sólida se cuentan (33, 35):

- La baja disponibilidad de agua únicamente permite el desarrollo de mohos, excluyendo el uso potencial de bacterias y levaduras;
- La fermentación de materiales a gran escala plantea aún serios problemas para el control de temperatura, pH, humedad y concentración de gases;
- La agitación o mezclado del sustrato puede requerir de alta potencia o consumo de energía;
- La producción y manejo de esporas para la inoculación es laboriosa en algunos hongos;
- El uso de sustratos se limita a los materiales sólidos y;

- Siendo un campo relativamente nuevo, la información científica es muy escasa.

5. Parámetros de la fermentación. sólida

Los parámetros de importancia son: microorganismos, humedad, cantidad de iniciador, temperatura, forma y tamaño de partículas, agitación aireación y pH.

Microorganismos: En las fermentaciones sólidas, el relativamente bajo contenido de agua está calculado para favorecer únicamente el desarrollo de mohos. Dentro de este grupo, los géneros Aspergillus y Rhizopus se han usado extensamente por su capacidad de síntesis de amilasas y proteasas para la producción de Koji, Tempeh y otros productos (A. oryzae, A. soyae, R. oligosporus y R. oryzae). Se conoce que algunas especies de Aspergillus producen micotoxinas; A. flavus y A. parasiticus producen aflatoxinas (25, 30, 33, 34), pero esto no significa que todas las cepas de A. flavus sean productores de aflatoxinas, pues se ha demostrado (30) que solamente el 38% de las 93 cepas conocidas de A. flavus produce aflatoxinas. Idénticamente el A. ochraceus y el Penicillium viridicatum producen ocratoxina. En resumen, existen pocas especies que en condiciones específicas producen micotoxinas (62). El A. niger no produce micotoxinas (30), y se ha empleado con éxito en fermentaciones sólidas de yuca, banano y papas, debido a su alta actividad amilolítica y a la composición de aminoácidos del micelio (51, 52, 55).

El P. crustosum utiliza eficientemente la cafeína como única fuente de nitrógeno (53) y además puede consumir la mayoría de los componentes del jugo de pulpa de café (38) entre ellos ácido clorogénico y cafeína, por lo cual puede ser de gran utilidad para la detoxificación de la pulpa de café.

El Trichoderma harzianum muestra un alto poder celulolítico y abundante crecimiento en cultivos líquidos de jugo de pulpa de café (1, 38), y bien podría contribuir a la reducción de fibra en la pulpa de café.

Humedad: Cuando el contenido de agua es muy alto los espacios vacíos entre las partículas se llenan de agua desalojando al aire y provocando disminución del oxígeno en la masa, y además podría estimular la contami-

nación bacteriana (55). Por otro lado, si el contenido de agua es muy bajo el crecimiento de los hongos se inhibe. El nivel de agua se ajusta según los requerimientos del o los microorganismos (19). Por ejemplo, en el proceso Koji varía de 31 a 40%, mientras que el óptimo para obtener compost es 45 a 60% de humedad, en cambio valores de 18 a 28% favorecen la formación de aflatoxinas (35, 57). La síntesis de proteína en materiales amiláceos es mayor a niveles de 50 a 60% de agua en los sustratos, pero en materiales celulósicos se desconoce la influencia del nivel de la humedad inicial sobre la síntesis de proteína.

Inóculo: Usualmente se requiere una alta concentración de esporas para la inoculación, tanto para asegurar un rápido crecimiento como para anular la competencia de otros microorganismos propios del sustrato. Silman y col. (1979) observaron rendimientos muy bajos de aflatoxina cuando fermentaron maíz sin inocular. Raimbault y Alazard (1980) informaron que en fermentaciones con inóculo excesivo muchas esporas no germinaban. La cantidad óptima de inoculación varía de 10^6 a 10^7 esporas/g de material seco.

Temperatura: Los mohos pueden crecer en un amplio rango de temperatura (20° a 45°C), cuya influencia tiene efectos complejos. Finger y col. (1976) informan que el requerimiento de oxígeno aumenta con la temperatura. Según Raimbault y Alazard (1980) altas temperaturas inhiben la germinación de esporas pero no afectan significativamente el desarrollo del micelio.

Para la producción de enzimas y micotoxinas la temperatura ideal varía entre 28 y 35°C . El micelio de A. niger se desarrolla de 30 a 45°C pero su rendimiento máximo se consigue a $35 - 40^\circ\text{C}$ (51, 55).

Forma y tamaño de las partículas: En las reacciones bioquímicas de las fermentaciones sólidas el oxígeno es esencial, y para ello el O_2 debe difundirse en la capa acuosa que rodea a la partícula sólida, o penetrar en los poros del sustrato. En consecuencia, el tamaño y la forma de las partículas determinan el grado de porosidad (24); Cannel y Moo-Young (19) sugieren que la fracción porosa o los espacios libres deben llegar por lo menos al 30% del volumen total en las fermentaciones sólidas. Obviamente, la naturaleza del material también influye; en materiales como papas, yuca y banano la molienda a través de malla de 2 mm es suficiente para garantizar la aireación (52, 55).

Aireación y agitación: Son parámetros claves en la transferencia de masa dentro de las partículas o entre ellas. La transferencia de oxígeno entre las partículas depende de los espacios libres, la aireación y la agitación o mezclado (19). Cuando los espacios vacíos son grandes, los requerimientos de agitación y aireación son menores; sin embargo, estas operaciones son indispensables para eliminar el CO_2 y reabastecer con aire fresco a los espacios libres.

Hesseltine (34) informa que la agitación favorece la distribución de las esporas del inóculo, mantiene la homogeneidad durante la fermentación y facilita el intercambio de gases y de calor. Pero la agitación excesiva es perjudicial a la fermentación. La agitación óptima varía de 1 a 16 rpm para la producción de Koji, enzimas y micotoxinas.

En las fermentaciones estáticas la aireación desempeña las funciones antes anotadas; el aumento en el flujo de aire mejora la producción enzimática, el desarrollo del micelio y el consumo de sustrato (56).

Según Senez (55) la aireación y la agitación ocasional de los materiales durante la fermentación conducen a buenos rendimientos y costos de producción bajos. Flujos de aire de 3.5 a 10 l/min/kg son muy recomendables (51, 52).

pH: Los mohos crecen a pH ácidos, 3.0 a 4.5, que también limitan la contaminación bacteriana; el efecto del pH inicial en las fermentaciones sólidas no está bien establecido. Durante la fermentación el pH tiende a disminuir (55) dependiendo de la cantidad de urea y sales de amonio que intervengan en la fermentación. Raimbault y Alazard (1980) informan que la urea estimula el desarrollo fúngico cuando representa el 40 a 50% del nitrógeno total.

En la fermentación fúngica del jugo de pulpa de café, de León y col. (1980) usaron un pH inicial de 3.5; en cambio Schiwimmer y Kurtzman (53) informan como pH óptimo 4.8 para la decafeinización de infusiones de café tostado.

C. Potencialidad de la Fermentación Sólida en la Utilización de la Pulpa de Café y Desechos Agroindustriales

Se ha demostrado ampliamente que los microorganismos exhiben la más

alta eficiencia de conversión de carbohidratos y síntesis de proteína en comparación con las especies animales (30).

La discusión presentada anteriormente demuestra la potencialidad tecnológica para la elaboración de nuevos productos, obtención de enzimas, y actualmente para el enriquecimiento proteico de productos con bajo contenido de proteína. La fermentación sólida presenta perspectivas más halagadoras que la fermentación líquida para la producción de proteína unicelular en los países en vías de desarrollo, en donde la baja disponibilidad de capital, tecnología y capacidad de comercialización aunado a la alta disponibilidad de materiales celulósicos y feculentos, crean el ambiente propicio para que estos países desarrollen sus propias fuentes de proteína a través de procesos de bajo costo como las fermentaciones en sustrato sólido. Según Senez (1978) la yuca enriquecida por fermentación supera ampliamente la productividad de cultivos de maíz, trigo y soya en términos de valor de proteína.

Las posibilidades de uso de pulpa de café en fermentaciones sólidas se basa en las evidencias de mohos capaces de consumir cafeína, ácido clorogénico y otros componentes de la pulpa en fermentaciones líquidas. Los carbohidratos y el relativamente alto contenido de nitrógeno no proteico en la pulpa podrían ser buenas fuentes de carbono y nitrógeno respectivamente, para el crecimiento de mohos que permita el enriquecimiento de la pulpa con proteína fúngica.

III. OBJETIVOS

Con la presente investigación se pretende explorar, mediante la fermentación en sustrato sólido, el enriquecimiento proteico de pulpa de café, su posible uso en animales monogástricos y además establecer los lineamientos generales para la futura implementación de esta tecnología.

En forma específica se pretende:

- Determinar la capacidad de síntesis proteica de tres microorganismos (Aspergillus niger, Penicillium crustosum y Trichoderma harzianum) en pulpa de café.
- Determinar las condiciones óptimas de fermentación sólida para lograr el máximo contenido de proteína, y en lo posible, el menor contenido de los factores con actividad antifisiológica (fibra, cafeína, taninos) en el material fermentado.
- Determinar la calidad nutritiva del producto seleccionado en función de la eficiencia de fermentación.

IV. SIGNIFICADO DEL ESTUDIO

El presente estudio contribuirá, por una parte, a evitar la contaminación ambiental con desechos agroindustriales como la pulpa de café, y por otra parte, a la obtención de nuevas fuentes de proteína a partir de estos desechos.

Académicamente, brindará parte de los conocimientos fundamentales necesarios para determinar la posible aplicación de la fermentación en estado sólido a sub-productos lingno-celulósicos como la pulpa de café. Así también, proporcionará las primeras evidencias de los efectos que tal proceso puede tener sobre las características químicas y nutricionales de la pulpa de café, y se espera colabore a elucidar las implicaciones nutricionales de compuestos antifisiológicos como la cafeína, los taninos y la fibra, normalmente presentes en dicho sub-producto. Todo lo anterior puede dar bases para futuras investigaciones en este campo.

Las perspectivas prácticas y económicas del proceso son obvias, puesto que esta alternativa brindaría otra posible fuente de ingreso para los productores de café, banano, papas, yuca y otros, y además proveería a la industria animal alternativas de fuentes proteicas a bajo costo.

El probable incremento en la proporción de pulpa de café a incluirse en raciones para monogástricos mediante el uso de esta tecnología, también contribuiría a evitar la competencia por granos básicos entre el hombre y los animales.

V. MATERIALES Y METODOS

A. Generalidades

La investigación se desarrolló en tres etapas. En la primera se seleccionaron las condiciones de fermentación en estado sólido para la pulpa de café, en la segunda se estudió la cinética de fermentación, y en la tercera etapa se produjo material suficiente para determinar la calidad química y biológica del producto final obtenido.

En las etapas indicadas se usó pulpa de café y los mohos que se describen más adelante.

El análisis de los datos se efectuó siguiendo los métodos de análisis de varianza, covarianza, correlación y regresión (20, 31, 47, 60).

1. Pulpa de café

Como desecho agroindustrial se usó pulpa de café de la cosecha 1980-1981, procedente del beneficio de café "Michatoya" de Amatitlán, Guatemala.

2. Microorganismos

Se ensayó con tres cepas de mohos seleccionados en base a los resultados informados por varios investigadores:

- Aspergillus niger, cepa n. 10 del Laboratorio ORSTOM (Office de Recherche Scientifique d'Outre Mer), por su contenido de proteína y su alto poder amilolítico informado por Senez (1978) y Raimbault (1981).
- Penicillium crustosum, NRRL 5452 usado en la decafeinización fúngica de café (Schwimmer y Kurtzman, 1974), y además por su capacidad de utilizar la mayor parte de los componentes del jugo de pulpa de café (38). Esta cepa se adquirió de la American Type Culture Collection, U. S. A.
- Trichoderma harzianum, cepa aislada en el ICAITI, por su poder celulolítico y rápido crecimiento en aguas de desecho de los beneficios de café, informado por Aguirre y col. (1976).

Las cepas de A. niger y de T. harzianum fueron donadas por las colecciones del ORSTOM de Francia y del ICAITI de Guatemala respectivamente.

Mantenimiento de las cepas y producción de esporas: Para el mantenimiento de las cepas y para la producción de esporas se usó agar papa (PDA). La incubación efectuada a 28°C por una a dos semanas fue satisfactoria para alcanzar una abundante esporulación.

Las suspensiones de esporas para la inoculación se prepararon según la metodología de Mudgett y Bajracharya (1980), y se almacenaron a 4°C hasta su uso en las pruebas experimentales, en vista de que Silman (1980) demostró que la viabilidad de las esporas en suspensión no disminuía aún después de dos meses de almacenamiento.

La densidad o la concentración de esporas se controló por recuento de esporas viables en placas de Petri con agar papa e incubando a 28°C por dos días.

ETAPA I

Objetivo

Seleccionar las condiciones más adecuadas para la fermentación sólida de pulpa de café en base a la síntesis o incremento de proteína.

Tratamiento de los materiales

La pulpa fresca fue congelada, liofilizada, molida a través de malla de 2 mm y almacenada.

VARIABLES

1. Humedad inicial del sustrato

En ensayos preliminares de crecimiento de los tres mohos en cajas de Petri, usando pulpa de café a varias humedades iniciales, se observó que con 50% de agua inicial, encontrado como óptimo para sustratos amiláceos (51, 52, 55), la pulpa se mostró muy seca y no hubo crecimiento; en cambio el crecimiento de los mohos fue mayor conforme aumentaba el contenido de agua inicial a partir de 60%. Por esta razón se consideró a la humedad inicial como una importante variable de estudio y se ensayaron tres niveles de humedad inicial: 60%, 70% y 80%.

2. Microorganismos: Se evaluaron A. niger, P. crustosum y T. harzia-num, por considerarse entre los mohos con mayores posibilidades de crecimiento en pulpa de café.

3. - Temperatura: Se usó 30° y 35°C como temperaturas de fermentación, dado que se han encontrado como las más favorables para los mohos antes mencionados (38, 51, 52).

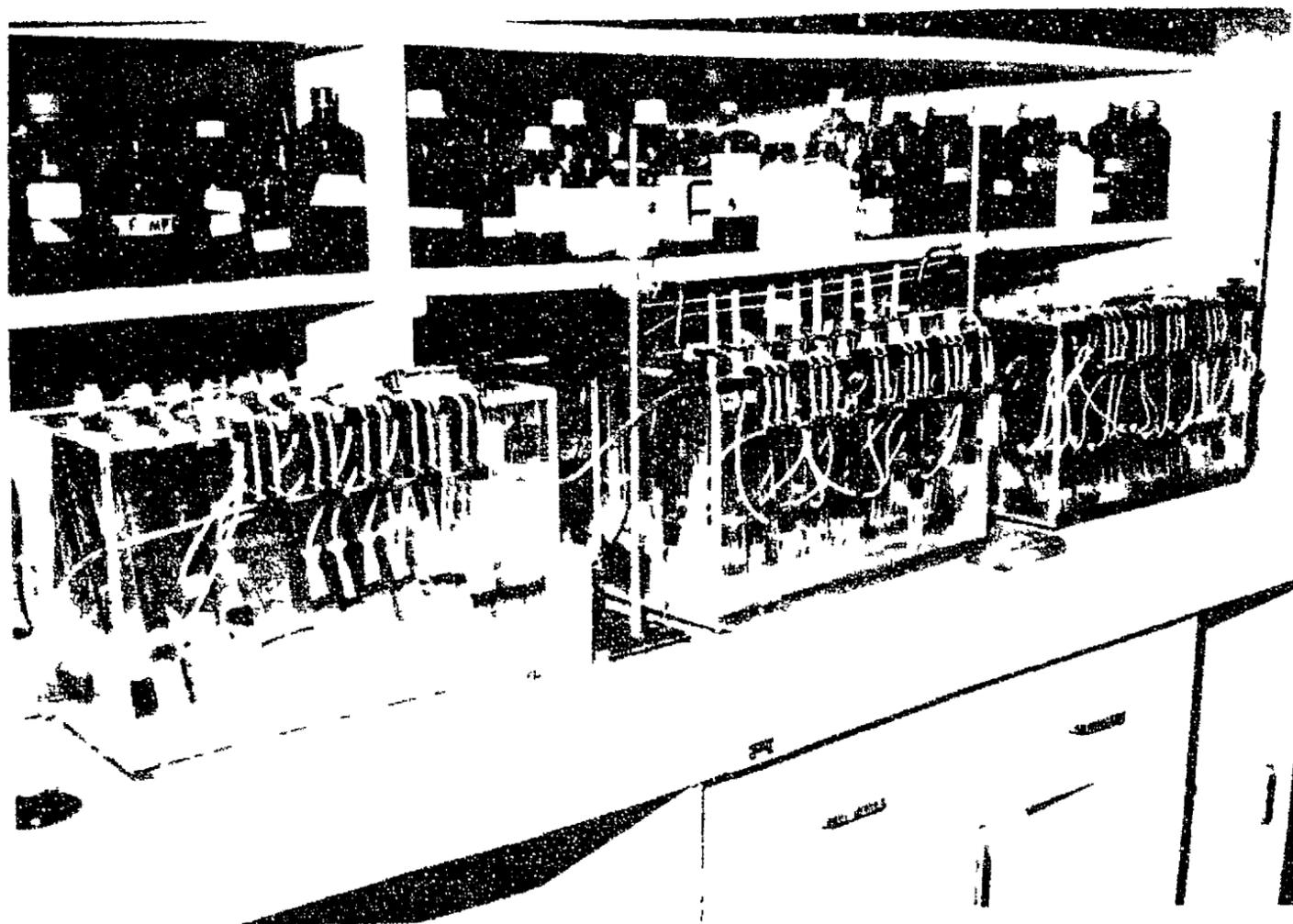
COMPOSICION DEL MEDIO SOLIDO

Por cada 100 g de pulpa seca se añadió fosfato di-ácido de potasio (KH_2PO_4 ; 5 g); urea (3,5 g) y sulfato de amonio (7.5 g) estas dos últimas como fuentes que provean igual proporción de nitrógeno (52).

Las sales se disolvieron en cantidades apropiadas de agua, luego se dosificó la suspensión de esporas a razón de 2×10^7 esporas/ g de material seco a inocular, se acidificó la suspensión minerales-esporas con HCl diluído hasta un pH cercano a 2.3, se mezcló con la pulpa seca hasta homogenizar completamente el conjunto y finalmente, se ajustó el pH del material a 3.5.

METODO DE CULTIVO

Usando columnas con entrada de aire, similares al arreglo de Raimbault y Alazard (1980) para estudio de fermentaciones sólidas, se ensayó con cargas equivalentes a 10 g de material seco por columna. A cada unidad se su ministró constantemente aire saturado de agua a un flujo de 8 L/min/kg seco. Las columnas se mantuvieron a temperatura en un baño de agua de convección forzada (Gráfica 1).



GRAFICA 1. Equipo de fermentación sólida

Previamente, al explorar el crecimiento de los tres mohos en las columnas de fermentación y a las condiciones informadas como óptimas en otros sistemas de cultivo, se observó que el máximo crecimiento de los mohos se alcanzaba en un rango de 50 - 70 horas de fermentación, tiempo que es mayor al informado como ideal (24 horas) en fermentaciones sólidas de papas, yuca y banano (51, 52, 55). Por este motivo se seleccionó evaluar el enriquecimiento proteico (crecimiento) en los dos puntos o tiempos más representativos de la cinética de fermentación: 24 y 67 horas de fermentación. Los ensayos se realizaron en triplicado en diferentes días.

ANALISIS FISICOS Y QUIMICOS

Al finalizar la fermentación se midió el pH, y luego se determinó el peso y la humedad de los materiales antes y después de la fermentación para establecer el balance de masa. El material fermentado restante se secó a 75°C, se molió y se analizó en duplicado por:

- Contenido de aminoácidos básicos, el cual se usó como parámetro de control de la síntesis proteica o crecimiento del micelio, después de explorar varios métodos para determinar proteína verdadera, los que sufrían fuertes interferencias (28) por el color y/o los polifenoles de la pulpa y las sales de nitrógeno residuales después de la fermentación. En la cuantificación de la fracción de aminoácidos básicos se aplicó los principios descritos por Gómez Brenes y col. (27, 28); fundamentalmente la técnica consistió en una hidrólisis ácida de las muestras usando 25 ml de HCl 6 N por 2.0 - 2.5 g de muestra y efectuando la hidrólisis a 121°C durante dos horas, seguida de la separación de la fracción de aminoácidos básicos por electroforesis a pH 5.3. Luego se reveló con ninhidrina, la misma fracción se eluyó en alcohol y se tomaron las lecturas de absorbancia a 570 nm. Como patrón se usó una mezcla de aminoácidos básicos en la misma proporción en que se encuentran en la pulpa de café (12): lisina, 43.4%; histidina, 24.2% y arginina, 32.4%, y que es muy similar a la observada en la proteína de mohos (64).
- Cafeína, se determinó en la pulpa original y en las muestras en

que se obtuvo el máximo crecimiento y/o incremento del contenido de aminoácidos básicos. Para tal determinación se siguió el método de Ishler y col. (1948).

ETAPA II

Los resultados obtenidos en la Etapa I, permitieron seleccionar al moho y sus condiciones de fermentación más favorables para alcanzar el mayor contenido de proteína en la pulpa fermentada, y con las mismas se trabajó en esta etapa. Concretamente se estudió la cinética de fermentación sólida de A. niger a 35°C y con una humedad inicial del sustrato de 80%.

OBJETIVO

Determinar el tiempo de cosecha, mediante el conocimiento de la velocidad específica de síntesis proteica de A. niger en la fermentación sólida de pulpa de café, y determinar si la proporción de aminoácidos varía con el tiempo de fermentación.

VARIABLES

El tiempo de fermentación fue la única variable, tomándose muestras a intervalos regulares.

METODO DE CULTIVO

El tratamiento de los materiales, la composición del medio y el método de cultivo esencialmente son los mismos que se describieron para la etapa I, y que se resumen a continuación:

Moho: A. niger; humedad inicial del sustrato: 80%; temperatura: 35°C; pH inicial: 3.5; flujo de aire: 8 L/min/kg.

ANALISIS FISICOS Y QUIMICOS

Además de realizar los análisis mencionados en la etapa I, se determinó:

- Relación de aminoácidos totales/aminoácidos básicos, siguiendo una técnica similar a la descrita para los aminoácidos básicos (28): hidrólisis ácida, separación por electroforesis a pH 5.3 de las tres fracciones de aminoácidos (AA ácidos, AA neutros y AA básicos), reacción con la ninhidrina y lectura de la absorbancia a 570 nm, con el objeto de establecer la relación de Absorbancia de aminoácidos totales/Absorbancia de aminoácidos bá-

sicos. Dicha relación puede ser de utilidad para establecer el factor para transformar el contenido de aminoácidos básicos a aminoácidos totales o proteína verdadera. Para comprobar tal valor se analizó la composición de aminoácidos en muestras de puntos representativos de la cinética de síntesis proteica, siguiendo el método general de Spackman (1958), por cromatografía en columnas con resinas de intercambio iónico utilizando para este propósito un autoanalizador marca Technicon (63). Las muestras se hidrolizaron con 5 ml de HCl 6 N por 0.02 g de nitrógeno (kjeldahl), en atmósfera de nitrógeno, durante dos horas a 140°C.

ETAPA III

PRODUCCION DE PULPA FERMENTADA Y EVALUACIONES QUIMICAS Y BIOLOGICAS

Basado en los datos obtenidos en las etapas anteriores, se seleccionó el tiempo de fermentación mínimo para máxima producción de proteína y/o máximo crecimiento. En cultivos masivos y usando las columnas mencionadas en la etapa I, se obtuvo el material necesario para las evaluaciones químicas y biológicas, usando el moho y las condiciones seleccionadas en las etapas anteriores.

En la pulpa de café y en el producto final fermentado se efectuaron análisis para establecer la composición química proximal de acuerdo a la metodología de la AOAC (1975), cafeína según Ishler y col. (1948) y taninos expresados como ácido tánico según AOAC (1975). El contenido de paredes celulares, hemicelulosa, celulosa, lignina y fibra ácida detergente se determinó según los métodos de Van Soest (65, 66, 67). También se determinó nitrógeno proteico soluble en agua a pH 7.0, según el método de la AOCS (1972). La fracción soluble se dializó por 12 horas y en el residuo no dializado se determinó nitrógeno.

Finalmente, se efectuaron estudios de crecimiento en dos especies de animales: 1) pollos de engorde "abados" y 2) ratas recién destetadas de la raza Wistar. Las condiciones experimentales fueron similares a las usadas en varios estudios (11, 13). Se usó la dieta basal descrita en el Cuadro 3; la pulpa de café deshidratada y el producto fermentado reemplazaron a la harina de maíz en un 10%. En vista de que el propósito fue el de ensayar la eficiencia de reemplazo de maíz con producto fermentado y el efec-

to de la fermentación sólida sobre el valor nutritivo de la pulpa de café, en el caso de emplearla en la alimentación de animales monogástricos.

Los pollos usados fueron de 3 días de edad y se distribuyeron asegurando el mismo peso inicial promedio (44.78 g) para cada dieta. Dentro de una misma dieta se formaron 3 grupos de seis pollos cada uno distribuidos al azar. Las ratas se distribuyeron en grupos de 8 ratas por dieta, asegurando igual peso promedio entre los grupos (44.5 g). Las dietas y el agua se ofrecieron ad libitum. Se registraron los datos de aumento de peso y consumo de alimento cada semana.

VI. RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados obtenidos en cada etapa experimental.

A. ETAPA I

Contenido de aminoácidos básicos. Los cambios observados en el contenido de aminoácidos básicos a las 24 y 67 horas de fermentación sólida se expresan como porcentaje del producto fermentado (base seca) en el Cuadro 4 y como porcentaje del sustrato inicial (base seca), en el Cuadro 5.

El contenido de aminoácidos básicos expresado en base al producto como en base al sustrato aumentó significativamente ($p < 0.01$) con el tiempo de fermentación, en los tres mohos estudiados. Este aumento fue significativamente más alto ($p < 0.01$) en las fermentaciones con mayor humedad inicial del sustrato, según se puede apreciar en la Gráfica 2, donde se presenta el contenido de aminoácidos básicos obtenido a las 67 horas de fermentación a varias humedades para los tres mohos. Por otra parte, el efecto de la temperatura de fermentación sobre el contenido de aminoácidos básicos no fue significativo ($p < 0.37$), en cambio si se encontraron diferencias significativas ($p < 0.01$) entre mohos, en donde A. niger dio rendimientos significativamente más altos ($p < 0.01$) que los otros dos mohos, evaluados a un mismo nivel de humedad inicial del sustrato.

Analizando los resultados obtenidos con A. niger, en los Cuadros 4 y 5 y en la Gráfica 3 se observa que el mayor crecimiento se obtuvo a 80% de humedad inicial del sustrato en las fermentaciones, tanto a 30°C como a 35°C; también se puede apreciar que las diferencias entre los rendimientos de fermentación a 30°C con 70-80% de humedad inicial y a 35°C con 80% de humedad inicial, no es de mayor magnitud aún cuando probó ser estadísticamente significativa ($p < 0.05$). Este hecho es de importancia desde el punto de vista práctico, ya que se alcanzarían buenos resultados aun sin un estricto control de la temperatura de fermentación y de la humedad inicial del sustrato. El rendimiento máximo, como se observa en las Gráficas 2 y 3, sin embargo, corresponde a las fermentaciones con A. niger a 35°C sobre pulpa de café con 80% de humedad inicial condiciones que se consideraron óptimas en base a estas evaluaciones, y con las cuales se trabajó la segunda etapa experimental.

Pérdida de materia seca. A través de balances de masa en las fermentaciones sólidas se observó que las pérdidas de materia seca (considerando al sustrato inicial como 100%) aumentaron significativamente con el tiempo de fermentación y con la humedad inicial del sustrato, en cambio la influencia de la temperatura no fue significativa ($p < 0.78$), según se puede observar en el Cuadro 6. Entre mohos, hubo diferencias significativas ($p < 0.01$), y nuevamente con A. niger las pérdidas fueron más altas que con P. crustosum y T. harzianum, lo cual demuestra la existencia de una relación entre consumo de nutrientes (pérdida de materia seca) con el grado de crecimiento del moho.

Variaciones de pH y de humedad final. En el Cuadro 7 se muestran las variaciones de pH a 24 y 67 horas de fermentación, y de igual forma en el Cuadro 8 se informan las humedades del material fermentado. Como se puede apreciar, el pH y la humedad final aumentaron significativamente ($p < 0.01$) con el tiempo de fermentación y con la humedad del sustrato, mas no con la temperatura ($p < 0.11$). Como en el caso anterior de pérdida de materia seca, el mayor incremento de humedad final correspondió a A. niger. Esto concuerda con el hecho de que evidentemente a mayor crecimiento se esperaría mayor actividad metabólica la que conlleva a la formación de CO_2 y agua, la cual contribuye al aumento en la humedad final.

También las variaciones de pH parecen ser dependientes del crecimiento y en forma particular de las características fisiológicas de cada moho. En los Cuadros 4 y 7 se observa que si bien el crecimiento de P. crustosum fue menor que el de A. niger, el pH final de las fermentaciones con el Penicillium citado tiende a ser más básico.

Cafeína. El contenido de cafeína expresado por 100 g de sustrato inicial se muestra en el Cuadro 9. No se encontraron diferencias significativas ($p < 0.48$) entre mohos, ni entre los grupos con diferente temperatura ($p < 0.55$), es decir que no hubo consumo o degradación significativa de cafeína durante la fermentación, pues al expresarla en base al producto fermentado, la concentración relativa de cafeína aumentó por efecto del consumo de carbohidratos y otros nutrientes. Anteriormente se consideró a la cafeína como posible fuente natural de nitrógeno para algunos mohos, pero al no haber habido consumo de la misma se supone que el sustrato fue lo

suficientemente rico en nitrógeno por la urea y $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ añadidos, por tanto, los mohos no fueron forzados a metabolizar cafeína.

B. ETAPA II

Los resultados de la cinética de crecimiento de A. niger sobre pulpa de café en estado sólido se resumen en el Cuadro 10. Al igual que en la etapa anterior, el contenido de aminoácidos básicos se expresa en base al producto final y al sustrato inicial.

Contenido de aminoácidos básicos en el producto fermentado. Como se observa en la Gráfica 4 hubo variaciones significativas ($p < 0.01$) al aumentar el tiempo de fermentación hasta por un período de 43 horas, donde el contenido de aminoácidos tiende a estabilizarse, y a partir de las 67 horas no hubo cambios significativos.

Se encontró que el crecimiento de A. niger puede ser descrito por la siguiente función cúbica ($r^2 = 98.12\%$):

$$Y = -0.799364 + 0.139231 T - 0.001746 T^2 + 0.000007 T^3$$

donde:

- Y = contenido de aminoácidos básicos (% b.s. producto), y
- T = tiempo de fermentación (horas).

Contenido de aminoácidos básicos en base al sustrato inicial. Este parámetro varió significativamente con el tiempo de fermentación ($p < 0.01$), sin embargo, los cambios no fueron significativos ($p < 0.36$) a partir de las 36 horas de fermentación. Según se observa en la Gráfica 4 aparece un máximo entre las 43 y 48 horas para luego disminuir conforme avanza la fermentación. Nuevamente, la función cúbica siguiente se ajustó a este tipo de crecimiento ($r^2 = 91.32\%$):

$$Y = -0.260344 + 0.106012 T - 0.001486 T^2 + 0.000006 T^3$$

en este caso,

- Y = Aminoácidos básicos (% b.s. sustrato inicial).

En base a esta función se encontró que el punto máximo ocurre a las 52.13 horas de fermentación, sin embargo, esto es de interés relativo porque como se anotó anteriormente después de las 36 horas de fermentación el contenido de aminoácidos básicos no varía significativamente. En consecuencia, el tiempo de cosecha o de finalización de la fermentación bien

puede ser 36 horas. Sin embargo, es de interés práctico la concentración de proteína en el producto final y como puede apreciarse en el Cuadro 10 la concentración de aminoácidos en base al producto no varía significativamente ($p < 0.56$) entre las 43 y 48 horas, pero sí es más alto que el grupo de 36 horas, razones antes señaladas por las que se considera que la fermentación debe finalizar entre las 43 y 48 horas en base al criterio fundamental de lograr el máximo crecimiento y en el menor tiempo posible. Cabe señalar también que en el caso particular de la pulpa de café, se ha indicado que con una concentración elevada de proteína en la ración, los efectos antifisiológicos de la pulpa en ratas se ven disminuídas significativamente (11). Lo anterior refuerza la selección de un tiempo de fermentación mayor al límite de 36 horas. Después de haber seleccionado como tiempo de fermentación 43-48 horas, se siguió con la tercera etapa experimental

Pérdida de materia seca. En el Cuadro 10 y en la Gráfica 5 se describen las pérdidas de materia seca durante la fermentación. Se encontró que las pérdidas o el consumo de materia seca aumentaron significativamente ($p < 0.01$) a partir de las 20 horas de fermentación, siguiendo la siguiente función:

$$Y = -0.653405 + 0.3864817 T \quad (r = 0.968),$$

donde

Y = pérdida de materia seca (%), y

T = tiempo de fermentación (horas).

Además se observó una asociación altamente significativa ($p < 0.001$) entre el contenido de aminoácidos básicos del material fermentado y la pérdida de materia seca ($r^2 = 88.17\%$), (ver Gráfica 6).

Variaciones de pH. Se observaron grandes variaciones de pH en la etapa de crecimiento logarítmico y luego una tendencia a estabilizarse después de las 43 horas. Los datos se presentan en el Cuadro 10 y en la Gráfica 5, y los mismos varían significativamente ($p < 0.01$) en función del tiempo de fermentación:

$$\text{pH} = 3.067768 + 0.082407 T - 0.000465 T^2 \quad (r^2 = 93.50\%).$$

Las variaciones de pH tienden a estabilizarse entre las 43 y 48 horas de fermentación. Esto refuerza el haber escogido como tiempo de fermentación 43 a 48 horas, dado que la estabilización del pH es sugerente que ya no se desarrolla mayor actividad biológica en el proceso a estos tiempos.

Lo anterior se ve reforzado por el hecho de que también se encontró una relación altamente significativa ($p < 0.001$) entre la variación en pH y el incremento en los aminoácidos básicos del producto fermentado, según se observa en la Gráfica 7.

Humedad final. Las comparaciones del contenido de humedad del producto fermentado a los distintos tiempos evaluados mostraron diferentes significativas ($p < 0.01$), según se informa en el Cuadro 10. El contenido de humedad tendió a incrementarse con el tiempo de fermentación, vale decir con el crecimiento del moho. La asociación entre humedad final y crecimiento probó ser significativa ($p < 0.001$ y $r^2 = 77.25\%$). Como se aprecia, esta asociación, sin embargo, probó tener un valor de r^2 menor a las asociaciones encontradas entre crecimiento y pH, y crecimiento y pérdida de materia seca. Esto significa que las últimas variables explican en mayor grado el incremento en proteína que las variaciones en contenido de humedad.

Relación de aminoácidos. La razón entre las lecturas de absorbancia de aminoácidos totales y las lecturas de absorbancia de aminoácidos básicos obtenidas por el método de ninhidrina, para los materiales obtenidos a los diferentes tiempos de fermentación evaluados se presentan en el Cuadro 10. No se encontraron diferencias significativas ($p < 0.36$) entre dichas razones a los varios tiempos de fermentación; sin embargo aunque no haya significancia esta relación muestra una ligera tendencia a disminuir entre las 31 y 55 horas de fermentación, o sea en las fases de crecimiento tanto logarítmica como estacionaria. Por otra parte no se observaron asociaciones significativas ($r^2 = 26.18\%$) entre los cambios en la razón de aminoácidos y el tiempo de fermentación, así como con otras variables anteriormente analizadas (contenido de aminoácidos básicos: $r^2 = 13.98\%$; pH: $r^2 = 11.65\%$; humedad final: $r^2 = 6.81\%$; pérdida de materia seca: $r^2 = 6.30\%$).

En el Cuadro 11 se puede apreciar que la concentración total de aminoácidos aumenta en las muestras fermentadas, sin embargo, la concentración relativa de los mismos permanece muy similar tanto en la pulpa fresca como en las muestras fermentadas (Cuadro 11 A). La proteína verdadera estaría dada por la suma de todos los aminoácidos recuperados; de otra manera, aplicando la razón de aminoácidos determinada experimentalmente, el contenido de proteína verdadera se podría obtener multiplicando el total de AA básicos por la relación promedio de AA totales a AA básicos (3.9145 ± 0.227). Como puede apreciarse, los dos métodos no concuerdan en los resultados de proteína verdadera, aunque sí en el de AA básicos (ver Cuadro 10 y 11).

ETAPA III

EVALUACION QUIMICA Y BIOLOGICA DEL PRODUCTO FERMENTADO

Composición química

Usando el moho seleccionado (A. niger) y las condiciones de fermentación consideradas como óptimas a partir de los datos obtenidos en las etapas anteriores (temperatura, 35°C; humedad inicial del sustrato, 80%) se procedió a efectuar varias corridas y se logró acumular material fermentado, cuya caracterización químico-nutricional aparece en el Cuadro 12, en donde se incluyen los datos obtenidos para el material original.

En la pulpa fermentada los contenidos de fibra cruda, paredes celulares, hemicelulosa, fibra ácida detergente y celulosa son considerablemente menores que en la pulpa de café. Estos contenidos disminuyen muy posiblemente debido al consumo de hemicelulosa y parte de celulosa por el A. niger durante la fermentación. Los contenidos de cenizas, nitrógeno, sodio y potasio se incrementan en la pulpa fermentada por la adición de sales durante la preparación del medio sólido y por el agotamiento de otros nutrientes sólidos durante la fermentación, en particular el contenido de carbohidratos. Cabe resaltar el alto incremento obtenido en la concentración de potasio, dado que puede tener una implicación nutricional (8).

El contenido porcentual de taninos y de cafeína es ligeramente más alto en la pulpa fermentada, posiblemente debido a una baja utilización de estos componentes por el A. niger así como al efecto antes mencionado de decrecimiento en la concentración de otros nutrientes.

También se observa que la fermentación sólida incrementa el nitrógeno proteico soluble en agua y también el contenido de proteína verdadera

en 180 - 200% de su valor original, pese a que los resultados difieren grandemente entre los métodos usados para efectuar tal determinación.

Ensayo biológico en pollos

Los datos semanales de ganancia en peso de los pollos, consumo de alimento y la eficiencia alimenticia se presentan en el Cuadro 13. Se observa que la ganancia en peso a la primera semana fue significativamente menor ($p < 0.05$) para el grupo con pulpa de café sin fermentar comparado tanto con el grupo con dieta control como con el grupo con pulpa fermentada. En la Gráfica 8 se observa que en las siguientes semanas la ganancia en peso de los tres grupos fue significativamente diferente ($p < 0.05$). Los pollitos con pulpa fermentada crecieron mejor que el grupo con pulpa de café, mientras que los alimentados con dieta control a base de maíz y soya crecieron más que los dos grupos anteriores. El efecto de las dietas fue altamente significativo ($p < 0.05$). También se observa en el Cuadro 13 que en el grupo con dieta que incluye 10% de pulpa de café sin fermentar hubo menor consumo de alimento y mayor índice de eficiencia alimenticia, que el grupo control y aquél con una dieta con 10% de pulpa fermentada. Dado que tales diferencias alcanzaron significancia ($p < 0.05$, Cuadro 13), este hecho enfatiza la conveniencia de someter a la pulpa de café a un proceso de fermentación como el aquí evaluado previo a incluirla en dietas para pollos.

Ensayo biológico en ratas

Los resultados de crecimiento de ratas recién destetadas se resumen en el Cuadro 14 y en la Gráfica 9. En la primera semana se observó que la ganancia en peso del grupo con pulpa fermentada fue significativamente mayor ($p < 0.05$) que los grupos con dieta control y con pulpa de café. Sin embargo, en las siguientes semanas las diferencias de ganancia en peso no fueron significativas ($p < 0.82$) comparando los tres grupos, aunque se observa una tendencia más favorable en las ratas alimentadas con la dieta que incluye 10% de pulpa fermentada.

Las comparaciones de consumo de alimento por semana y de eficiencia alimenticia en una misma semana no mostraron diferencias significativas ($p < 0.30$) entre dietas. Una de las razones posibles por las que en este caso no se encontraron las diferencias mencionadas para el caso de los pollos, es que la rata es menos susceptible que el pollo tanto a la fibra como a los otros factores antifisiológicos de la pulpa de café (7, 8, 73).

VII. DISCUSION

A. SELECCION DE MOHO Y DE LAS CONDICIONES DE FERMENTACION

Existen mohos y levaduras que pueden usar algunos de los nutrientes que contiene la pulpa de café en cultivos líquidos (1, 38), a través del ensilaje (68) o en fermentación oxidativa tipo compost (16). Los mohos usados en este estudio A. niger, P. crustosum y T. harzianum probaron que pueden usar parte de los componentes de la pulpa mediante la fermentación en estado sólido. El moho A. niger mostró mejor crecimiento que P. crustosum y T. harzianum (Cuadros 4 y 5). Es de interés notar que Senez (1978), Raimbault y Alazard (1980) y Raimbault (1981) informan que la misma cepa de A. niger fue la más eficiente comparada con otros mohos para la fermentación sólida de materiales amiláceos como yuca y desechos de papas y de banana.

Los resultados obtenidos en el presente estudio indican que, aparte del moho, la variable que influye en mayor grado en el crecimiento del microorganismo durante la fermentación sólida de pulpa de café es la humedad inicial del sustrato (Cuadros 4 y 5). La pulpa por ser un material celulósico rico en pectinas y mucílago (23, 41, 49), absorbe mayor cantidad de agua por capilaridad y por absorción (51), disminuyendo así la presión de vapor del material y/o la disponibilidad de agua para el crecimiento del moho. Lo anterior explica en parte por qué con una humedad inicial del sustrato de 80% se obtuvieron los más altos rendimientos de proteína en el producto (Cuadro 4). En cambio, en sustratos amiláceos se ha informado que una humedad inicial de 50% es la más adecuada (51, 52, 55). La temperatura de fermentación no influyó significativamente ($p < 0.37$) en los resultados, pero se obtuvieron tendencias de mayor crecimiento de A. niger a 35°C y de P. crustosum y T. harzianum a 30°C (Cuadro 4).

Se ha informado que los mohos P. crustosum y T. harzianum pueden usar cafeína como fuente de nitrógeno (38, 53). En el presente estudio no se detectó tal habilidad (Cuadro 9). Este hecho posiblemente se deba a que las sales de nitrógeno añadidas al medio limitaron el metabolismo de este alcaloide, el que se ha indicado como un posible responsable de la actividad antifisiológica de la pulpa de café observada en diversas especies de animales (8, 29, 54). Considerando que el aumento en concentración de

proteína (Cuadro 4 y Gráfica 3) no da cuenta de todo el nitrógeno agregado, se considera que hubo exceso de sales de nitrógeno agregadas o que parte de ellas no fue utilizada por los mohos. En consecuencia, sería conveniente efectuar otros estudios disminuyendo la concentración de sales de nitrógeno agregadas con vista a favorecer el metabolismo de cafeína por los mohos, así como la economía de esta alternativa tecnológica.

B. CINÉTICA DE LA FERMENTACION SOLIDA CON A. niger

El contenido de aminoácidos básicos en la pulpa fermentada a diferentes tiempos aumentó significativamente ($p < 0.01$) al prolongar el tiempo de fermentación. Como se observa en la Gráfica 4, la cinética de síntesis proteica corresponde a la curva típica de crecimiento observada en los microorganismos, especialmente en mohos (51). En la misma se distinguen las siguientes fases: adaptación de 12 horas para que se inicie el proceso; de síntesis proteica logarítmica, de 12 a 43 horas; y la fase estacionaria que se inicia entre las 43 y 48 horas de fermentación.

La cinética de fermentación sólida de la pulpa de café con A. niger en el presente estudio queda definida por la velocidad específica de síntesis proteica ($\mu = 0.052 \text{ h}^{-1}$) y el tiempo de duplicación de la concentración proteica ($t_d = 6.6 \text{ h}$); este último es similar a los tiempos de duplicación reportados para mohos en diversos sistemas de cultivo (51).

Se observó que el crecimiento de A. niger está asociado significativamente ($p < 0.01$) a otras variables dependientes como pH, pérdida de materia seca o consumo de nutrientes y con el aumento de humedad en la pulpa fermentada. Particularmente el pH y la pérdida de materia seca muestran la más alta asociación con el crecimiento según se observa en las Gráficas 6 y 7. La importancia de estas asociaciones estriba en que se podría controlar el proceso de fermentación sólida únicamente con mediciones de pH, o a través de un balance de masa, o conociendo la humedad final del producto, siempre y cuando se use la misma composición del medio descrita anteriormente. En el caso de variar la composición del medio por la naturaleza o la cantidad de sales minerales convendría verificar o establecer de nuevo este tipo de asociación, especialmente con cambios de pH.

Los resultados de la cinética obtenidos aquí permiten establecer el tiempo de fermentación entre 43 y 48 horas, a partir del cual los incrementos de proteína no son significativos.

C. EVALUACION QUIMICA Y BIOLOGICA DEL PRODUCTO FERMENTADO

I. Composición química

La composición química del producto fermentado fue muy diferente a la de pulpa de café, especialmente por los altos contenidos de proteína verdadera, de nitrógeno y de potasio, y por la disminución en hemicelulosa y celulosa (Cuadro 12). Es decir que el crecimiento del moho o incremento en biomasa fúngica se efectuó a expensas de los carbohidratos solubles, de la hemicelulosa y parte de la celulosa como fuentes de carbono y de las sales de nitrógeno añadidas (1, 38). Aparentemente los taninos y la cafeína, referidos entre los posibles compuestos con actividad antifisiológica (8), permanecieron invariables durante la fermentación, no así la fibra cruda que disminuyó debido al consumo de hemicelulosa y celulosa ya informado. Aunque el A. niger no es un moho celulolítico (51) parece que al agotarse los carbohidratos solubles es capaz de cambiar su sistema metabólico hacia la utilización de celulosa y de otros carbohidratos complejos.

Aspectos metodológicos. El contenido de proteína verdadera en la pulpa de café y en el producto fermentado fue menor cuando se evaluó mediante el método de ninhidrina, que cuando se estimó por la sumatoria de aminoácidos, Cuadro 11. El primero, sin embargo, concuerda con valores obtenidos en otras investigaciones (26, 27) donde se informa que la proteína verdadera representa sólo el 60% del nitrógeno total de la pulpa de café. El método de recuperación de aminoácidos en el autoanalizador (Technicon 11), considerado como método de referencia en este estudio estimó, que el nitrógeno proteico correspondiente representa el 70 - 80% del nitrógeno total de la pulpa de café. Con este método se obtuvo valores de proteína verdadera en la pulpa fermentada muy semejantes a los informados para papa y yuca fermentadas en estado sólido (51, 52, 55). El Cuadro 12 incluye el contenido de proteína verdadera determinado por el método de ninhidrina en muestras de desechos de papas y de desechos de papa fermentados en estado sólido en los laboratorios del ORSTOM (55). El resultado fue más bajo (7.28%) que el informado (18-20%) en la literatura (51, 55), sin embargo, el primer valor se acerca al obtenido en la pulpa de café fermentada en este estudio (10.95%).

Debe enfatizarse, sin embargo, que a través de los métodos utilizados

para estimar proteína verdadera se demuestra que la fermentación en estado sólido con A. niger eleva en aproximadamente dos veces su valor original el contenido de ese nutriente en la pulpa de café. Finalmente, en base a que los resultados para el contenido de aminoácidos básicos son similares entre los dos métodos (Cuadros 10 y 11), es de suponer que la razón de aminoácidos ensayada o el factor de conversión a proteína verdadera subestima este valor. La causa posiblemente se deba a que no todos los aminoácidos reaccionan de la misma manera con la ninhidrina, de allí que pueda ser necesario determinar y aplicar un mayor factor de conversión al encontrado en este estudio.

2. Ensayo biológico en pollos y ratas

La utilización de pulpa de café en nutrición animal y especialmente en animales monogástricos presenta algunos problemas sobre los cuales se ha insistido en los últimos años (8, 9, 11, 13).

Los pollos y las ratas parecen ser las especies más sensibles a la acción adversa inherente al consumo de pulpa de café (11). De acuerdo al presente estudio los pollos parecen ser más sensibles, dado que en ellos se pudo constatar que la pulpa fermentada fue significativamente más eficiente ($p < 0.01$) que la pulpa de café sin fermentar en cuanto a ganancia en peso, consumo de alimento y eficiencia alimenticia, aunque no alcanzó los niveles correspondientes a la dieta control (Cuadro 14).

Aparentemente los taninos, cafeína y potasio de los cuales se ha indicado una posible acción antifisiológica (8), no afectaron el crecimiento de los pollos, dado que estos factores se encuentran en mayor concentración en la pulpa de café fermentada que en la pulpa sin fermentar (Cuadro 12). Posiblemente la disminución en el contenido de celulosa y fibra cruda durante la fermentación (Cuadro 12) contrarreste en parte el efecto negativo de la pulpa, aunque también es probable que el mayor contenido de proteína encontrado en la pulpa fermentada sea un factor de protección como se ha observado en otros estudios (11).

Se sabe que el organismo de la rata puede adaptarse mejor que el del pollo a las sustancias presentes en la pulpa (11). En este estudio se observó que los taninos, la fibra y la cafeína a los niveles presentes en los materiales no afectaron significativamente ($p < 0.82$) el crecimiento de

las ratas (Cuadro 14). La tendencia favorable en el comportamiento de las ratas que consumieron la dieta con pulpa fermentada comparada con aquella presentada por los otros grupos, como se dijo anteriormente, podría explicarse por la disminución de fibra y/o el incremento de proteína verdadera en el material fermentado. Es posible que las diferencias obtenidas en las ratas con pulpa de café y con pulpa fermentada no lleguen a evidenciarse porque la rata es menos sensible a la fibra que el pollo y porque en el presente estudio sólo se evaluaron dietas conteniendo 10% de pulpa (fermentada o sin fermentar). Debe anotarse también que la tendencia más favorable en el comportamiento de las ratas consumiendo la dieta con pulpa fermentada que el de aquellas con la dieta control (sin pulpa) es sugerente de una posible complementación proteica de esta última por el material fermentado. Este aspecto debiera ser sujeto de futuras investigaciones.

VIII. CONCLUSIONES

1. El moho A. niger mostró un mejor comportamiento que los mohos P. crustosum y T. harzianum en la fermentación sólida de pulpa de café, en términos de enriquecimiento proteínico de la misma.
2. La humedad inicial del sustrato sólido es una variable decisiva en las fermentaciones sólidas de materiales celulósicos como pulpa de café, que requieren mayor tiempo de fermentación que los sustratos amiláceos.
3. El desarrollo de la fermentación puede ser controlado con una simple medición de pH, si se usa la misma formulación del medio sólido.
4. La fermentación sólida mejora grandemente la calidad nutritiva de la pulpa de café, siendo de especial interés el aumento en el contenido de proteína verdadera y la disminución de los contenidos de celulosa y hemicelulosa.
5. La pulpa fermentada puede reemplazar un 10% de maíz con mayor eficiencia que la pulpa sin tratar, en la formulación de dietas para pollos de engorde, aunque no llega a alcanzar la misma eficiencia que la dieta control con maíz.

IX. RECOMENDACIONES

1. Efectuar estudios de fermentación en estado sólido de pulpa de café variando y disminuyendo progresivamente las fuentes externas de nitrógeno para facilitar el consumo de cafeína y de otros compuestos nitrogenados no proteicos presentes en la pulpa de café.
2. Investigar el comportamiento de los carbohidratos presentes en la pulpa durante la fermentación, con especial énfasis en los carbohidratos estructurales.
3. Estudiar a fondo el efecto de la fermentación sólida sobre las sustancias de la pulpa de café, a las cuales se atribuye actividad antifisiológica, como contribución a la identificación de los compuestos tóxicos de la misma.
4. Ensayar el sistema de fermentación en estado sólido, usando las levaduras aisladas de la pulpa de café (16, 68) y que son capaces de metabolizar la cafeína.
5. Realizar estudios experimentales de escalamiento a nivel de beneficios de café o de fincas cafetaleras.
6. Efectuar estudios de digestibilidad in vivo con la pulpa fermentada, y continuar con ensayos biológicos en pollos y en otras especies animales.

X. RESUMEN

Se estudió el sistema de fermentación de pulpa de café como sustrato sólido con el propósito de mejorar su valor nutritivo a través del crecimiento de hongos filamentosos. Con este propósito se usaron tres mohos diferentes: P. crustosum, T. harzianum y A. niger. Sobre el primero se ha informado que utiliza preferentemente el nitrógeno de la cafeína, el segundo debido a su alta actividad celulolítica, y el A. niger se ha usado exitosamente en la fermentación sólida de materiales amiláceos. Durante la fermentación se estudió la influencia de las variables más importantes como son el nivel de humedad inicial del sustrato (evaluado a 60, 70 y 80%) y la temperatura de fermentación (evaluada a 30 y 35°C). Como parámetros evaluativos del proceso se usaron la variación en el contenido de aminoácidos básicos como índice de la síntesis de proteína verdadera, las variaciones de pH y de humedad final y la pérdida de materia seca.

Se observó que los tres mohos pueden crecer en la pulpa de café en estado sólido, dando cada uno rendimientos de proteína verdadera significativamente diferentes ($p < 0.01$). Con el moho A. niger se obtuvieron los rendimientos más altos ($p < 0.01$) en cuanto a síntesis proteica. Por otra parte, la humedad inicial influyó significativamente ($p < 0.01$) sobre el crecimiento de los mohos y se observó que a mayor humedad inicial del sustrato (70 - 80%) hubo mayor crecimiento y síntesis proteica. La influencia de la temperatura de fermentación en cambio no fue significativa ($p < 0.37$) sobre los resultados de síntesis proteica. También se observó en los tres mohos que el crecimiento está relacionado directamente con la disminución de materia seca, aumento de humedad del sustrato, y con el aumento de pH durante la fermentación.

Habiendo seleccionado como temperatura de fermentación 35°C para el moho que brindó el mayor rendimiento en síntesis proteica (A. niger), se estudió su cinética de fermentación sólida en pulpa de café con 80% de humedad inicial. El contenido de aminoácidos básicos aumentó significativamente con el tiempo de fermentación ($p < 0.01$), hasta las 43 - 48 horas, luego se estabilizó y las diferencias no fueron significativas al 1%. Igual comportamiento se observó con las variaciones de pH. Por lo tanto se seleccionó un tiempo de fermentación de 43 - 48 horas.

El producto final obtenido bajo estas condiciones se sometió a análisis químicos y a ensayos biológicos en pollos y en ratas. Se observó que el contenido de proteína verdadera en la pulpa fermentada aumentó en un 200% de su valor original; por otra parte es interesante notar la disminución en el contenido de fibra cruda, celulosa, hemicelulosa y fibra ácida detergente. El contenido de taninos y de cafeína, compuestos de los que se ha informado una posible actividad antifisiológica (8), no fue afectado por la fermentación, pues su concentración porcentual en el producto final fue mayor que en la pulpa inicial debido al consumo o desaparición de otros nutrientes utilizados por el moho durante la fermentación.

Los resultados del estudio de crecimiento en ratas revelaron que la dieta conteniendo 10% de pulpa fermentada es de mejor calidad que la dieta control y que la dieta con 10% de pulpa sin fermentar, aunque las diferencias no fueron significativas. Lo anterior es indicativo de que en otras especies de animales fisiológicamente similares a la rata (como el cerdo) que pueden soportar contenidos de fibra relativamente altos (5 - 10%), la pulpa fermentada podría reemplazar con alguna ventaja al maíz o a otros nutrientes similares.

La ganancia en peso de los pollos en crecimiento alimentados con dieta control y con dietas que incluyen 10% de pulpa fermentada y sin fermentar fueron significativamente diferentes ($p < 0.01$). Se notó un efecto ampliamente favorable de la fermentación sólida sobre el valor nutritivo de la pulpa de café, pues el grupo que consumió la ración con pulpa fermentada creció en mejor forma que el grupo con pulpa sin fermentar, aunque no llegó a tener la misma eficiencia que la dieta control a base de maíz y soya.

En conclusión, la fermentación en estado sólido usando A. niger bajo las condiciones establecidas en este trabajo mejora ampliamente el valor nutritivo de la pulpa de café, como se demuestra tanto por la composición química, como por los resultados observados en los ensayos biológicos en pollos y ratas. Por lo mismo, la fermentación en estado sólido puede ser una alternativa práctica y económica para mejorar la calidad de la pulpa de café y la posibilidad de su posterior utilización para la producción de animales monogástricos como pollos o cerdos.

XI. BIBLIOGRAFIA

1. Aguirre, F.; O. Maldonado, C. Rolz, J. Menchú, R. Espinoza y S. de Cabrera. "Protein from waste". Chem. Technol., 6:636-640. 1976.
2. American Oil Chemistry Society, Chicago, Ill. "Nitrogen solubility index-NSI-". En: Smith, A. K. y S. J. Circle. eds. Soybeans; chemistry and technology. V.1, Proteins. Westport, Conn., AVI Publishing Co., Inc., 1972. pp. 451-452.
3. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D. C. Official methods of Analysis of the A. O. A. C. 12th ed. Washington, D. C., 1975. 1094 p.
4. Bajracharya, R. y R. Mudgett. "Solid substrate fermentations for enhanced protein recovery". Biotechnol. Bioeng., 21:551-560. 1979.
5. _____. "Effects of controlled gas environments in solid substrate fermentations of rice". Biotechnol. Bioeng., 22:2219-2235. 1980.
6. Block, S. "Composting conversion of solid wastes for mushroom growing". Biotechnol. Bioeng., 6:403-418. 1964.
7. Braham, J. E. "Pulpa de café en otras especies". En: Braham, J. E. y R. Bressani. eds. Pulpa de café; composición, tecnología y utilización. [Ottawa, Canadá, International Development Research Centre, 1978] pp. 89-96.
8. Bressani, R. "Factores antifisiológicos de la pulpa de café". En: Braham, J. E. y R. Bressani. eds. Pulpa de café; composición, tecnología y utilización. [Ottawa, Canadá, International Development Research Centre, 1978] pp. 143-152.
9. _____. "Posibles usos de los subproductos de los granos de café". En: Braham, J. E. y R. Bressani. eds. Pulpa de café; composición, tecnología y utilización. [Ottawa, Canadá, International Development Research Centre, 1978] pp. 31-43.
10. _____. "Subproductos del fruto de café". En: Braham, J. E. y R. Bressani. eds. Pulpa de café; composición, tecnología y utilización. [Ottawa, Canadá, International Development Research Centre, 1978] pp. 9-17.
11. _____; Eugenia Estrada, L. Elías, R. Jarquín y Lucrecia Urrutia. "Pulpa y pergamino de café. IV. Efecto de la pulpa de café deshidratada en la dieta de ratas y pollos". Turrialba, 23:403-409. 1973.
12. _____; Eugenia Estrada y R. Jarquín. "Pulpa y pergamino de café. I. Composición química y contenido de aminoácidos de la proteína de la pulpa". Turrialba, 22:299-304. 1972.

13. _____ y J. González. "Evaluación de la pulpa de café como posible sustituto del maíz en raciones para pollos de carne". Arch. Latinoam. Nutr., 28(2):208-221. 1978.
14. Brook, Elizabeth; W. Stanton y Ann Wallbridge. "Fermentation methods for protein enrichment of cassava". Biotechnol. Bioeng., 11:1271-1284. 1969.
15. Cabezas, M. T.; A. Flores y J. Egaña. "Uso de la pulpa de café en alimentación de rumiantes". En: Braham, J. E. y R. Bressani. eds. Pulpa de café; composición, tecnología y utilización. [Ottawa, Canadá, International Development Research Centre, 1978] pp. 45-67.
16. Calderón, Geraldina. Estudios sobre el posible mejoramiento químico nutricional de la pulpa del café por fermentación oxidativa. Tesis (Licenciatura Químico Biólogo)-Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala, 1981. 72 p.
17. Calle, V. H. "Producción de gas combustible por fermentación metánica de la pulpa de café". Bol. Inf. Cenicafé, Chinchiná, Colombia, 6: 198-205. 1955.
18. Cannel, E. y Moo-Young. "Solid-state fermentation systems". Process Biochem., 15(5):2-7. 1980.
19. _____. "Solid-state fermentation systems". Process Biochem., 15(6):24-28. 1980.
20. Cochran, W. G. Diseños experimentales. [Traducción de la 2a, ed. en inglés, 3a, reimpresión, 1962] México [D. F.] Editorial Trillas, 1978. 661 p.
21. Cuevas, R. Optimización y factibilidad económica del proceso de decafeinización de la pulpa de café. Tesis (M. Sc. Ciencias de Alimentos y Nutrición Animal)-Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia INCAP/CESNA. Guatemala, 1976. 57 p.
22. Edwards, Suellen S. "Central America; fungal fermentation of coffee waste". En: Evans, D. y L. Adler. eds. Appropriate technology for development; a discussion and case histories. Boulder, Col., Westview Press, 1979. pp. 329-342.
23. Elías, L. G. "Composición química de la pulpa de café y otros subproductos". En: Braham, J. E. y R. Bressani. eds. Pulpa de café; composición, tecnología y utilización. [Ottawa, Canadá, International Development Research Centre, 1978] pp. 19-29.

24. Finger, S.; R. Hatch y T. Regan. "Aerobial microbial growth in semisolid matrices; heat and mass transfer limitations". Biotechnol. Bioeng., 18:1193-1218. 1976.
25. Fuell, A. J. "Types of mycotoxins in foods and feeds". En: Goldblatt, L. A. ed. Aflatoxin. New York, Academic Press, 1969. pp. 187-221.
26. Gómez Grenes, R. "Procesamiento de la pulpa de café; tratamientos químicos". En: Braham, J. E. y R. Bressani. eds. Pulpa de café; composición, tecnología y utilización. [Ottawa, Canadá, International Development Research Centre, 1978] pp. 125-142.
27. _____; E. Amézquita, O. Paz y R. Bressani. "Método de ninhidrina para la estimación de proteína verdadera en alimentos y materias primas con potencial alimenticio". En: Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá. Informe anual; lo. de enero-31 de diciembre de 1978. San Salvador, El Salvador. [Guatemala, 1979] pp. 33-35. (Documento INCAP 30/2).
28. _____ y R. Bressani. "Un método para la determinación de aminoácidos aplicable a problemas de suplementación, fitomejoramiento y bioquímica nutricional". Arch. Latinoam. Nutr., 23:445-464. 1973.
29. Graham, D. M. "Caffeine-its identity, dietary sources, intake and biological effects". Nutr. Rev., 36:97-102. 1978.
30. Gray, W. D. The use of fungi as food and in food processing. London, Butterwords, 1970. v.1, 113 p.
31. Graybill, F. A. Theory and application of the linear model. North Scituate, Mass., Duxbury Press, 1976. 704 p.
32. Hagerman, Ann y L. Butler. "Condensed tannin purification and characterization of tannin associated proteins". J. Agr. Food Chem., 28(5):947-952. 1980.
33. Hesseltine, C. W. "Solid state fermentations". Biotechnol. Bioeng., 14(4):517-532. 1972.
34. _____. "Solid state fermentations - part I". Process Biochem., 12(6):24-27. 1972
35. _____. "Solid state fermentations - part II". Process Biochem., 12(9):29-32. 1972.
36. Ishler, N. R.; T. Finucane y Emanuel Borker. "Rapid spectrophotometric determination of caffeine". Anal. Chem., 20:1162-1166. 1948.

37. Jarquín, R. "Pulpa de café en la alimentación de cerdos". En: Braham, J. E. y R. Bressani. eds. Pulpa de café; composición, tecnología y utilización. [Ottawa, Canadá, International Development Research Centre, 1978] pp. 69-86.
38. León, R. de; F. Calzada, F. Herrera y C. Rolz. "Fungal biomass production from coffee pulp juice". J. Ferment. Technol., 58(6):579-584. 1980.
39. Krug, C. A. y R. A. De Poerck. Estudio mundial del café. Roma, FAO, 1969. pp. 358-367. (FAO, Estudios agropecuarios No. 76).
40. Martinelli, A. y C. Hesseltine. "Tempeh fermentation; package and tray fermentation". Food Technol., 18:761-675. 1964.
41. Menchú, J.; M. C. de Arriola, A. Fuentes y C. Rolz. "Industrialización de la pectina del mucílago de café". [compendio] En: Reunión Internacional sobre la Utilización de Subproductos del Café en la Alimentación Animal y otras Aplicaciones Agrícolas e Industriales. 1a. [Turrialba, Costa Rica] Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, 11-14 de junio, 1974. [Turrialba, C. R., CATIE, 1974] pp. 53.
42. Molina, M. R. "Secado de la pulpa de café". En: Braham, J. E. y R. Bressani. eds. Pulpa de café; composición, tecnología y utilización. [Ottawa, Canadá, International Development Research Centre, 1978] pp. 111-124.
43. _____; G. de la Fuente, M. A. Batten y R. Bressani. "Decaffeination; a process to detoxify coffee pulp". J. Agr. Food Chem., 22:1055-1059. 1974.
44. Mudgett, R. y R. Bajracharya. "Effects of controlled gas environment in microbial enhancement of plant protein recovery". J. Food Biochem., 3:135-149. 1980.
45. Murillo, Beatriz. "Ensilaje de la pulpa de café". En: Braham, J. E. y R. Bressani. eds. Pulpa de café; composición, tecnología y utilización. [Ottawa, Canadá, International Development Research Centre, 1978] pp. 97-110.
46. National Academy of Sciences, Washington, D. C. Microbial process; promising technologies for developing countries. Washington, D.C., 1979. pp. 142-157.
47. Neter, J. y W. Wasserman. Applied linear statistical models. Homewood, Ill., Richard D. Irwin, Inc., 1974. pp. 273-296.
48. Ogunda, A. O. "Fermentations of cassava tubers". Food Chem., 5(3):249-255. 1980.

49. Orozco, R. A. "Obtención de pectina a partir del mucílago del café". En: Reunión Internacional sobre la Utilización de Subproductos del Café en la Alimentación Animal y otras Aplicaciones Agrícolas e Industriales". 1a. [Turrialba, Costa Rica] Centro Agronómico tropical de Investigación y Enseñanza, 11-14 de junio, 1974. [Turrialba, C. R., CATIE, 1974] pp. 52.
50. Prescott, S. y G. Dunn. Industrial microbiology. 3rd ed. New York, McGraw - Hill Book Co., Inc., 1959. pp. 673-682.
51. Rimbault, M. Fermentation en milieu solide; croissance de champignons filamenteux sur substrat amylacé. Paris, ORSTOM, 1981. 291 p. [ORSTOM, Travaux et document No. 127].
52. _____ y D. Alazard. "Culture method to study fungal growth in solid fermentation". European J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 9: 199-209. 1980.
53. Schwimmer, S. y R. Kurtzman. "Fungal decaffeination of roasted coffee infusions". J. Food Sci., 37:921-924. 1974.
54. Second International Caffeine Workshop. "Special report on caffeine". Nutr. Rev., 38(5):196-200. 1980.
55. Senez, J. C. "Solid state fermentation of starchy substrates". En: United Nations University. Bioconversion of organic residues for rural communities. Papers presented at the conference on the State of the Art of Bioconversion Residues for Rural Communities, Guatemala city, Institute of Nutrition of Central America and Panama, 13-15 Nov. 1978. [Tokyo, Japan] United Nations University [c1979] pp. 127-131. (IPWN-1/UNUP-43) (Food Nutr. Bull. Suppl. 2, Nov./79).
56. Silman, R. "Enzyme formation during solid substrate fermentation in rotating vessels". Biotechnol. Bioeng., 22:411-420. 1980.
57. _____; H. Conway, R. Anderson y E. Bagley. "Production of aflatoxin in corn by large scale solid-substrate fermentation process". Biotechnol. Bioeng., 21(10):1799-1808. 1979.
58. Smith, J. "Commercial mushroom production", Process Biochem., 4(5):43-46, 52. 1969.
59. _____. "Commercial mushroom production-2". Process Biochem., 7(5):24-26. 1972.
60. Snedecor, G. W. Statistical methods. 6th ed. Ames, Iowa, The Iowa State University Press, 1967. 593 p.
61. Spackman, D. H.; W. H. William y S. Moore. "Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids". Anal. Chem., 30:1190-1206. 1958.

62. Sreenivasamurthy, V. "Food toxins". J. Food Sci. Technol., 17(1): 89-94. 1980.
63. Technicon Instruments Corp., Tarrytown, New York. Operation manual for the 'Technicon TSM System'. Tarrytown, New York, 1973. 1 v., paginación variada. (Technical publication No. Ta1-0233-10).
64. Thatcher, F. S. "Food and feeds from fungi". Ann. Rev. Microbiol., 8:449-472. 1954.
65. Van Soest, P. J. "Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin". J. Assoc. Official Agr. Chem., 46(5):829-835. 1963.
66. _____ y R. H. Wine. "Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. The determination of plant cellwall constituents". J. Assoc. Official Anal. Chem., 50:50-55. 1967.
67. _____ y R. H. Wine. "Determination of lignin and cellulose in acid-detergent fiber with permanganate". J. Assoc. Official Anal. Chem., 51:780-785. 1968.
68. Villagrán, Lilian. Evaluación química de tratamientos microbiológicos anaeróbicos para reducir los factores antifisiológicos de la pulpa de café. Tesis (Licenciatura Químico Biólogo)-Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala, 1981. 39 p.
69. Whitaker, J. "Biochemical changes occurring during the fermentation of high protein foods". Food Technol., 32(5):175-179. 1978.

XII. APENDICES

CUADRO 1

PRODUCCION DE CAFE Y DE PULPA DE CAFE

País \ Año	Café verde (1000 TM)*				Pulpa de café fresca (1000 TM)**			
	1975	1976	1977	1978	1975	1976	1977	1978
Brasil	1263	354	958	1200	2598	728	1970	2368
Colombia	540	520	571	669	1110	1069	1174	1376
Ecuador	78	85	83	89	160	175	171	183
Guatemala	129	143	149	139	265	294	306	286
Mundial	4460	3645	4303	4383	9175	7498	8852	9016

* Fuente: Anuario FAO de Producción.

** 1 kg de café en cereza rinde 210 g de café verde y 432 g de pulpa fresca (1, 10)

CUADRO 2
COMPOSICION DE LA PULPA DE CAFE*

	Fresca	Secada al sol	Deshidratada
Humedad (%)	79.4 ± 6.5	12.4 ± 1.5	10.4 ± 3.6
Proteína cruda (N x 6.25) (%)	2.3 ± 0.4	11.6 ± 1.7	11.2 ± 1.5
Fibra cruda (%)	4.9 ± 0.9	23.4 ± 4.6	20.0 ± 4.4
Cenizas (%)	1.5 ± 0.3	7.8 ± 1.8	7.8 ± 1.9
Extracto etéreo (%)	0.6 ± 0.1	3.0 ± 0.4	3.0 ± 0.9
Extracto libre de N (%)	11.3 ± 3.2	42.0 ± 7.1	48.0 ± 6.5

* Valores representativos de varias investigaciones desarrolladas en el INCAP.

CUADRO 3

FORMULACION PORCENTUAL DE DIETAS BASALES
USADAS EN EXPERIMENTOS CON POLLOS Y RATAS

INGREDIENTES	POLLOS	RATAS
Harina de soya	35.00	20.00
Harina de maíz amarillo	55.35*	69.70*
Aceite de algodón	5.00	5.00
Fosfato de calcio (H. hueso)	2.10	-
Carbonato de calcio	1.50	-
Sal	0.45	-
Pulpa de café	*	*
Pulpa fermentada	*	*
Di-metionina	0.30	0.30
Premix Pfizer - 100	0.30	-
Minerales Hegsted**	-	4.0
Aceite de bacalao	-	1.00
	100.00	100.00
Solución de vitaminas del complejo B (ml)***	-	5.00
PROTEINA EN DIETAS (%)	21.00	15.30

* La pulpa de café y el producto fermentado reemplazaron a la harina de maíz en 10% de las dietas N. 2 y N. 3, respectivamente, dieta N.1: dieta basal o control (10, 73).

** Mezcla de sales de Hegsted (Nutritional Biochemicals Co., Cleveland, Ohio, USA).

*** Manna, L., y S. M. Hauge. "A possible relationship of vitamin B₁₂ to orotic acid". J. Biol. Chem., 202:91-96, ¹³1963.

CUADRO 4

EFFECTO DE MOHO, HUMEDAD INICIAL Y TEMPERATURA DE FERMENTACION
SOBRE EL CONTENIDO DE AMINOACIDOS BASICOS EN PULPA DE CAFE FERMENTADA

CONTENIDO DE AA BASICOS (% base seca del producto final)

MOHO	<u>A. niger</u>		<u>P. crustosum</u>		<u>T. harzianum</u>	
	24	67	24	67	24	67
Tiempo de Fermentación (horas)						
HUMEDAD INICIAL (%)	TEMPERATURA DE FERMENTACION: 35°C					
60	1.1123*	1.2217	1.0393	1.0717	0.9783	1.0117
	.0636**	.1217	.0290	.0537	.0634	.0505
70	1.1083	1.5783	1.0683	1.0797	1.0547	1.1047
	.0235	.2719	.0384	.0418	.0950	.1293
80	1.7823	2.8247	1.1310	1.7780	1.0790	1.4440
	.1481	.4998	.0835	.1788	.0440	.0776
	TEMPERATURA DE FERMENTACION: 30°C					
60	0.9845	1.1330	1.0202	1.1800	0.9795	1.0985
	.0247	.1838	.0049	.0127	.0205	.1690
70	1.0100	2.4425	1.1245	1.1800	1.0005	1.1175
	.0311	.1761	.0445	.0651	.0134	.0049
80	1.2425	2.4700	1.2200	1.9350	1.3110	1.5205
	.0389	.2135	.0099	.0721	.0651	.1167

* Media

** Desviación Estándar

CUADRO 5

EFFECTO DE MOHO, HUMEDAD INICIAL Y TEMPERATURA DE FERMENTACION SOBRE EL CONTENIDO DE AMINOACIDOS BASICOS EN PULPA DE CAFE FERMENTADA

CONTENIDO DE AA BASICOS (% base seca de sustrato inicial)

MOHO	<u>A. niger</u>		<u>P. crustosum</u>		<u>T. harzianum</u>	
Tiempo de Fermentación (horas)	24	67	24	67	24	67
HUMEDAD INICIAL (%)	TEMPERATURA DE FERMENTACION: 35°C					
60	1.1090*	1.1927	1.0393	1.0513	0.9783	1.0080
	.0722**	.1237	.0290	.0820	.0634	.0529
70	1.0560	1.3967	1.0683	1.0647	1.0547	1.0930
	.1039	.2012	.0384	.0207	.0950	.1136
80	1.6747	2.1320	1.1310	1.5650	1.0790	1.2403
	.1750	.3481	.0835	.1044	.0440	.0276
	TEMPERATURA DE FERMENTACION: 30°C					
60	0.9845	1.1140	1.0205	1.1500	0.9795	1.0985
	.0247	.2107	.0049	.0297	.0205	.1690
70	1.0100	1.9330	1.1245	1.1685	0.9910	1.1060
	.0311	.1994	.0445	.0643	.0269	.0042
80	1.2415	2.0375	1.1675	1.6555	1.3110	1.3090
	.0389	.2143	.0247	.0573	.0651	.0509

* Media

** Desviación Estándar

CUADRO 6

EFFECTO DE MOHO, HUMEDAD INICIAL Y TEMPERATURA DE FERMENTACION SOBRE LA PERDIDA DE MATERIA SECA EN LA FERMENTACION SOLIDA DE PULPA DE CAFE

PERDIDA DE MATERIA SECA (%)						
MOHO	<u>A. niger</u>		<u>P. crustosum</u>		<u>T. harzianum</u>	
Tiempo de Fermentación (horas)	24	67	24	67	24	67
HUMEDAD INICIAL (%)	TEMPERATURA DE FERMENTACION: 35°C					
60	0.9353*	2.3100	0.0	1.9600	0.0	0.6400
	1.6512**	4.0010		3.3948		1.1085
70	4.8200	11.2300	0.0	1.3467	0.0	0.9533
	7.5324	2.6670		2.3325		1.6512
80	6.1233	24.4000	0.0	11.5900	0.0	13.9967
	1.9891	.9642		7.6165		3.3898
	TEMPERATURA DE FERMENTACION: 30°C					
60	0.0	1.9050	0.0	2.5000	0.0	0.0
		2.6941		3.5355		
70	0.0	20.9350	0.0	5.7400	0.9600	1.100
		2.4678		6.7034	1.3676	.0000
80	0.0	17.5800	4.3250	14.4300	0.1450	13.7750
		1.5556	1.2233	.2121	.2051	3.2739

* Media

** Desviación Estándar

CUADRO 7

EFECTO DE MOHO, HUMEDAD INICIAL Y TEMPERATURA DE FERMENTACION
SOBRE EL pH FINAL DE LA PULPA DE CAFE

pH FINAL DE LA PULPA FERMENTADA

MOHO	<u>A. niger</u>		<u>P. crustosum</u>		<u>T. harzianum</u>	
	24	67	24	67	24	67
Tiempo de Fermentación (horas)						
HUMEDAD INICIAL (%)	TEMPERATURA DE FERMENTACION: 35°C					
60	3.63*	3.60	3.70	3.63	3.73	3.73
	.06**	.10	.00	.06	.06	.06
70	3.63	3.70	3.60	3.50	3.63	3.70
	.06	.17	.06	.00	.06	.00
80	4.96	6.30	3.60	4.53	3.63	4.33
	.06	.26	.10	.31	.06	.93
	TEMPERATURA DE FERMENTACION: 30°C					
60	3.45	3.60	3.60	3.70	3.60	3.80
	.07	.14	.00	.14	.00	.14
70	3.50	5.60	3.50	3.75	3.60	3.80
	.00	.28	.00	.35	.00	.14
80	3.80	6.20	4.70	7.00	3.60	4.95
	.00	.56	.14	.28	.00	1.34

* Media

** Desviación Estándar

CUADRO 8

EFFECTO DE MOHO, HUMEDAD INICIAL Y TEMPERATURA DE FERMENTACION
SOBRE LA HUMEDAD FINAL DE LA PULPA FERMENTADA

HUMEDAD DE PULPA FERMENTADA (%)

MOHO	<u>A. niger</u>		<u>P. crustosum</u>		<u>T. harzianum</u>	
	Tiempo de Fermentación (horas)	24	67	24	67	24
HUMEDAD INICIAL (%)	TEMPERATURA DE FERMENTACION: 35°C					
60	62.400*	63.730	60.853	61.163	60.327	61.183
	1.490**	3.607	.520	5.800	1.147	1.497
70	72.133	74.387	70.767	72.300	71.013	71.870
	.968	1.251	1.456	2.016	1.752	.629
80	81.157	83.493	79.297	81.547	79.263	82.980
	.644	.753	.838	1.442	.720	.463
	TEMPERATURA DE FERMENTACION: 30°C					
60	59.605	59.445	60.150	60.970	60.740	60.855
	.643	.361	1.372	3.521	.239	.501
70	70.595	76.940	69.735	72.035	70.275	70.540
	.585	.028	.304	1.549	.219	.393
80	79.700	83.140	80.840	81.425	80.445	81.605
	.665	.269	.311	.926	.812	1.180

* Media

** Desviación Estándar

CUADRO 9

**EFFECTO DE MOHO Y TEMPERATURA DE FERMENTACION
SOBRE EL CONTENIDO DE CAFEINA EN PULPA FERMENTADA⁺**

CAFEINA (% base seca del sustrato inicial)

MOHO	Pulpa Café	<u>A. niger</u>	<u>P. crustosum</u>	<u>T. harzianum</u>
TEMPERATURA DE FERMENTACION (°C)				
35	0.637*	0.637	0.717	0.650
	.032**	.047	.040	.036
30	0.625	0.615	0.610	0.710
	.007	.106	.000	.141
TOTAL	0.632	0.628	0.674	0.674
	.024	.064	.065	.082

+ Pulpa de café fermentada con 80% de humedad inicial por 67 h.

*** Media**

**** Desviación Estándar**

CUADRO 10

CINETICA DE FERMENTACION SOLIDA DE A. NIGER EN PULPA DE CAFE

TIEMPO DE FERMENTACION (Horas)	AMINOACIDOS BASICOS % Base Seca		PERDIDA MAT. SECA %	pH	HUMEDAD FINAL %	RELACION Abs. AA Totales Abs. AA Básicos
	PRODUCTO	SUSTRATO				
.00	1.123 ^{a+} * .004 **	1.123 ^a .004	0.00 ^a	3.50 ^a .00	78.51 ^a 1.74	4.2317 .5638
12	1.127 ^a .050	1.127 ^a .050	0.00 ^a	3.56 ^a .06	77.96 ^a 1.75	4.0020 .0435
20	1.293 ^b .030	1.251 ^b .022	3.23 ^{a,b} .61	4.10 ^b .26	78.60 ^a 2.37	4.0317 .0652
24	1.675 ^c .130	1.571 ^c .088	6.12 ^b 1.99	4.96 ^c .06	81.16 ^b .64	3.9557 .0564
31	2.027 ^d .007	1.771 ^d .019	12.61 ^c 1.24	5.26 ^d .06	81.99 ^b 1.19	3.8753 .1169
36	2.350 ^e .027	1.984 ^e .143	15.61 ^c 5.27	5.67 ^e .29	81.71 ^b .27	3.8293 .1465
43	2.542 ^f .045	2.071 ^e .062	18.52 ^{c,d} 1.03	5.90 ^f .00	82.70 ^{b,c} .78	3.7257 .0823
48	2.650 ^{f,g} .018	2.101 ^e .070	20.71 ^d 2.39	6.13 ^{f,g} .06	82.07 ^{b,c} .75	3.6930 .1686
55	2.720 ^{g,h} .082	2.083 ^e .040	23.40 ^d 1.61	6.30 ^g .17	83.34 ^{b,c} 1.56	3.7697 .4373
67	2.784 ^h .117	2.017 ^e .015	27.50 ^{d,e} 2.46	6.50 ^h .10	83.49 ^{b,c} .75	3.9480 .0774
73	2.790 ^h .052	1.981 ^e .054	29.01 ^e .63	6.63 ^h .06	84.55 ^{b,c} .30	3.9757 .2685
84	2.820 ^h .054	1.921 ^e .099	31.89 ^e 2.29	6.57 ^h .21	84.60 ^{b,c} .64	3.9567 .0750
91	2.830 ^h .058	1.897 ^e .065	32.97 ^f 1.89	6.53 ^h .12	84.54 ^{b,c} .78	3.9320 .0543
108	2.800 ^h .042	1.765 ^f .060	36.96 ^f 1.38	6.67 ^h .15	85.58 ^c .89	3.8760 .1070

+ Letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa al 5%

* Media

** Desviación Estándar

CUADRO 11

COMPOSICION DE AMINOACIDOS EN PULPA DE CAFE
SIN FERMENTAR Y FERMENTADA A VARIOS TIEMPOS

AMINOACIDOS (g/100 g secos)

AMINOACIDOS	PULPA DE CAFE	PULPA DE CAFE FERMENTADA			
		TIEMPO DE FERMENTACION (hrs)			
		36	48	55	84
Lisina	0.462	0.642	0.819	1.056	1.141
Histidina	0.260	0.377	0.456	0.584	0.640
Arginina	0.377	0.628	0.687	0.905	0.975
Ac. Aspártico	0.845	1.275	1.380	0.874	1.116
Treonina	0.319	0.549	0.673	0.619	0.614
Serina	0.332	0.418	0.569	0.449	0.472
Ac. Glutámico	0.695	1.061	1.213	0.882	1.313
Prolina	0.533	0.784	0.901	0.687	0.852
Glicina	0.421	0.594	0.697	0.424	0.662
Alanina	0.486	0.778	0.898	1.159	0.764
Valina	1.156	1.687	1.896	2.613	2.102
Metionina	0.321	0.526	0.582	0.459	0.408
Isoleucina	0.507	0.793	0.885	0.840	1.063
Leucina	0.564	0.868	0.959	1.031	1.071
Tirosina	0.205	0.393	0.443	0.508	0.684
Fenilalanina	0.285	0.453	0.474	0.469	0.860
Proteína verdadera*	7.767	11.853	13.520	13.559	14.737
Proteína verdadera**	5.150	7.590	8.870	8.390	9.060

* Total de aminoácidos recuperados en el autoanalizados de aminoácidos.

** Por el método de ninhidrina y aplicando la razón Abs. AA totales/ Abs. AA básicos y luego multiplicando por el contenido de AA básicos respectivo.

CUADRO 11A

COMPOSICION PORCENTUAL DE AMINOACIDOS EN LA PROTEINA DE PULPA DE CAFE SIN FERMENTAR Y FERMENTADA A VARIOS TIEMPOS

AMINOACIDOS (g/100 g de protefna verdadera)

AMINOACIDOS	PULPA DE CAFE	PULPA DE CAFE FERMENTADA			
		TIEMPO DE FERMENTACION (Hrs)			
		36	48	55	84
Lisina	5.9	5.4	6.1	7.8	7.7
Histidina	3.3	3.2	3.4	4.3	4.3
Arginina	4.9	5.3	5.1	6.7	6.6
Ac. Aspártico	10.9	10.8	10.2	6.4	6.6
Treonina	4.1	4.6	5.0	4.6	4.2
Serina	4.3	3.5	4.2	3.3	3.2
Ac. Glutámico	8.9	8.9	9.0	6.5	8.9
Prolina	6.9	6.6	6.7	5.1	5.8
Glicina	5.4	5.0	5.2	3.1	4.5
Alanina	6.3	6.7	6.6	8.5	5.2
Valina	14.9	14.3	14.0	19.3	14.3
Metionina	4.1	4.4	4.3	3.4	2.8
Isoleucina	6.5	6.7	6.5	6.2	7.2
Leucina	7.3	7.3	7.1	7.6	7.3
Tirosina	2.6	3.3	3.3	3.7	4.6
Fenilalanina	3.7	3.8	3.5	3.5	5.8

CUADRO 12

COMPOSICION DE PULPA DE CAFE FERMENTADA
EN ESTADO SOLIDO Y SIN FERMENTAR (%)

COMPONENTES	PULPA DE CAFE	PULPA FERMENT.		
Humedad	7.76	3.13		
Extracto etéreo	2.02	2.32		
Fibra cruda	21.85	12.73		
Nitrógeno	1.61	5.58		
Cenizas	4.60	12.25		
Sodio	0.29	0.39		
Potasio	1.28	3.54		
PAREDES CELULARES	29.00	22.75		
Hemicelulosa	0.90	0.05		
Fibra ácida detergente	28.10	22.70		
Celulosa	17.20	11.60		
Lignina	11.25	11.35		
OTROS COMPONENTES				
Taninos	2.15	2.72		
Cafeína	0.63	0.74		
Nitrógeno proteico soluble	0.25	0.49		
PROTEINA VERDADERA	PULPA DE CAFE	DES. PAPA ¹	PULPA FERMENT.	D. PAPA FERM. ¹
Proteína verdadera*	8.98		16.32	
Proteína verdadera**	4.50	2.432	10.94	7.283
Aminoácidos básicos**	1.123	0.466	2.735	1.369

* Método de recuperación de AA en autoanalizador Techcon II.

** Método de ninhidrina (28).

¹ Muestras de desechos de papas y de desechos de papas fermentados procedentes de los laboratorios de ORSTOM de Francia, y analizados junto con las muestras de pulpa de café fermentada.

CUADRO 13

GANANCIA EN PESO, CONSUMO DE ALIMENTO Y EFICIENCIA ALIMENTICIA EN POLLOS DE ENGORDE, ALIMENTADOS CON RACIONES CONTENIENDO 10% DE PULPA DE CAFE FERMENTADA Y SIN FERMENTAR

13.1 GANANCIA ACUMULADA DE PESO (g)*

SEMANA	DIETA No.1 (Control)	DIETA No.2 (Pulpa café,10%)	DIETA No.3 (P. fermentada,10%)
1	35.17 ± 9.17 ^b **	22.00 ± 7.71 ^a	35.78 ± 6.86 ^b
2	114.50 ± 18.45 ^c	69.06 ± 23.73 ^a	98.39 ± 14.45 ^b
3	222.72 ± 28.97 ^c	147.94 ± 41.62 ^a	201.00 ± 22.00 ^b
4	368.83 ± 42.23 ^c	260.88 ± 54.80 ^a	324.83 ± 30.75 ^b

13.2 CONSUMO DE ALIMENTO POR POLLO POR SEMANA (g)

SEMANA	DIETA No.1 (Control)	DIETA No.2 (Pulpa café,10%)	DIETA No.3 (P. fermentada,10%)
1	67.37 ± 1.60 ^b	51.83 ± 5.52 ^a	67.27 ± 6.14 ^b
2	150.57 ± 7.58 ^b	122.83 ± 6.71 ^a	145.80 ± 9.50 ^b
3	238.83 ± 10.11 ^b	197.33 ± 15.64 ^a	184.00 ± 18.19 ^a
4	345.53 ± 2.74 ^b	291.77 ± 17.35 ^a	298.40 ± 14.75 ^a
TOTAL	802.37 ± 12.34 ^b	663.73 ± 37.84 ^a	695.47 ± 32.98 ^a

13.3 EFICIENCIA ALIMENTICIA POR GRUPO POR SEMANA

SEMANA	DIETA No.1 (Control)	DIETA No.2 (Pulpa café,10%)	DIETA No.3 (P. fermentada,10%)
1	1.95 ± 0.24 ^a	2.54 ± 0.17 ^b	1.88 ± 0.14 ^a
2	1.88 ± 0.18 ^a	2.59 ± 0.19 ^b	2.06 ± 0.18 ^a
3	2.22 ± 0.27 ^b	2.50 ± 0.18 ^b	1.80 ± 0.19 ^a
4	2.37 ± 0.18 ^a	2.57 ± 0.07 ^a	2.41 ± 0.18 ^a
GLOBAL	2.19 ± 0.21 ^a	2.53 ± 0.06 ^b	2.14 ± 0.11 ^a

* Peso inicial medio: 44.78 g; grupo de 18 pollos por dieta, excepto grupo con dieta No.2: 16 pollos; 2 murieron en la 1a. semana.

** Media ± D.E.; letras diferentes en una fila indican significan. 5%.

CUADRO 14

GANANCIA EN PESO, CONSUMO DE ALIMENTO Y EFICIENCIA ALIMENTICIA EN RATAS, ALIMENTADAS CON RACIONES CONTENIENDO 10% DE PULPA DE CAFE FERMENTADA Y SIN FERMENTAR

14.1 GANANCIA ACUMULADA DE PESO (g)*

SEMANA	DIETA No.1 (Control)	DIETA No.2 (Pulpa café,10%)	DIETA No.3 (P. fermentada,10%)
1	32.63 ± 2.07 ^{a**}	32.13 ± 5.06 ^a	36.88 ± 3.40 ^b
2	67.63 ± 6.95 ^a	68.25 ± 10.05 ^a	73.13 ± 9.31 ^a
3	104.75 ± 16.98 ^a	101.13 ± 19.55 ^a	106.75 ± 18.01 ^a
FINAL (24 días)	113.87 ± 21.54 ^a	111.00 ± 23.60 ^a	118.13 ± 22.38 ^a

14.2 CONSUMO MEDIO DE ALIMENTO POR SEMANA (g)

SEMANA	DIETA No.1 (Control)	DIETA No.2 (Pulpa café,10%)	DIETA No.3 (P. fermentada,10%)
1	78.5 ± 6.48 ^{**}	77.63 ± 7.07	81.12 ± 7.45
2	102.5 ± 7.19	107.75 ± 10.69	109.38 ± 9.77
3	130.8 ± 17.07	130.50 ± 17.56	126.87 ± 13.62
FINAL (24 días)	349.8 ± 35.40	355.63 ± 37.46	345.00 ± 34.90

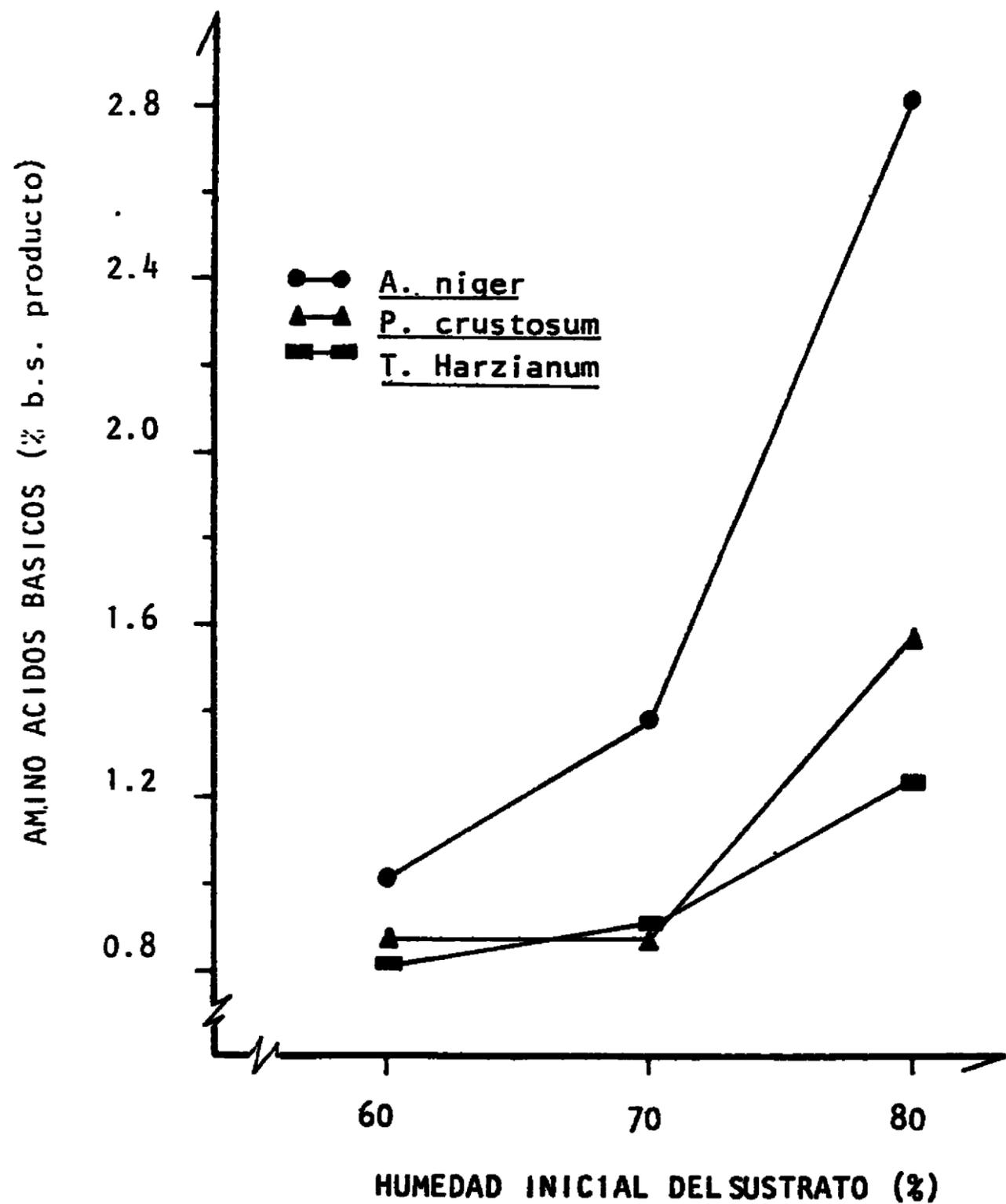
14.3 EFICIENCIA ALIMENTICIA MEDIA

SEMANA	DIETA No.1 (Control)	DIETA No.2 (Pulpa café,10%)	DIETA No.3 (P. fermentada,10%)
1	2.41 ± 0.17 ^{**}	2.45 ± 0.31	2.31 ± 0.33
2	2.98 ± 0.39	3.01 ± 0.31	2.95 ± 0.32
3	3.76 ± 0.83	4.20 ± 0.91	3.98 ± 0.81
FINAL (24 días)	3.13 ± 0.37	3.28 ± 0.45	2.97 ± 0.33

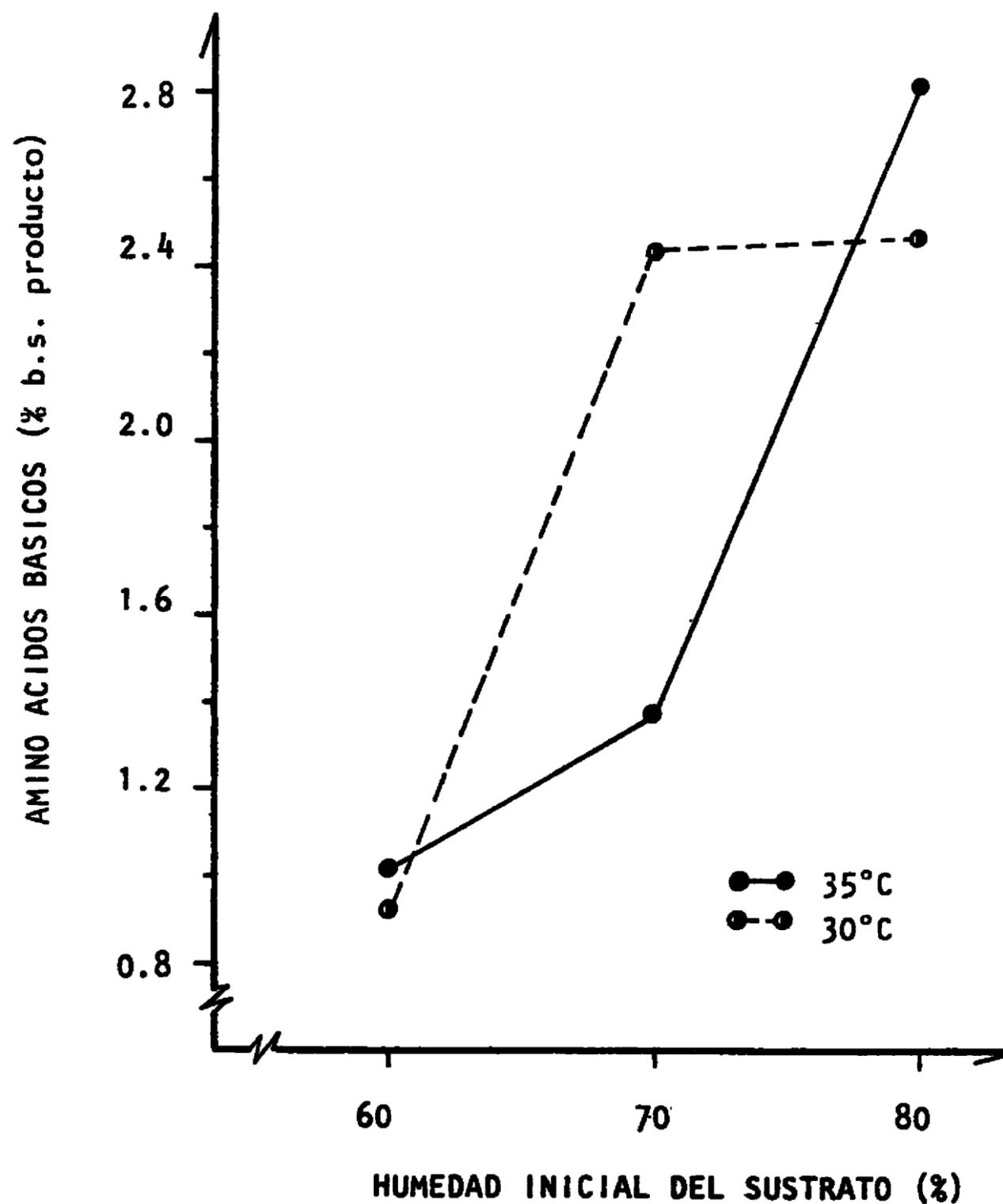
* Peso inicial medio 44.5 g; grupo de 8 ratas (40 y 40) para cada dieta.

** Media ± Desviación estándar; letras diferentes en una fila indican significancia al 5%.

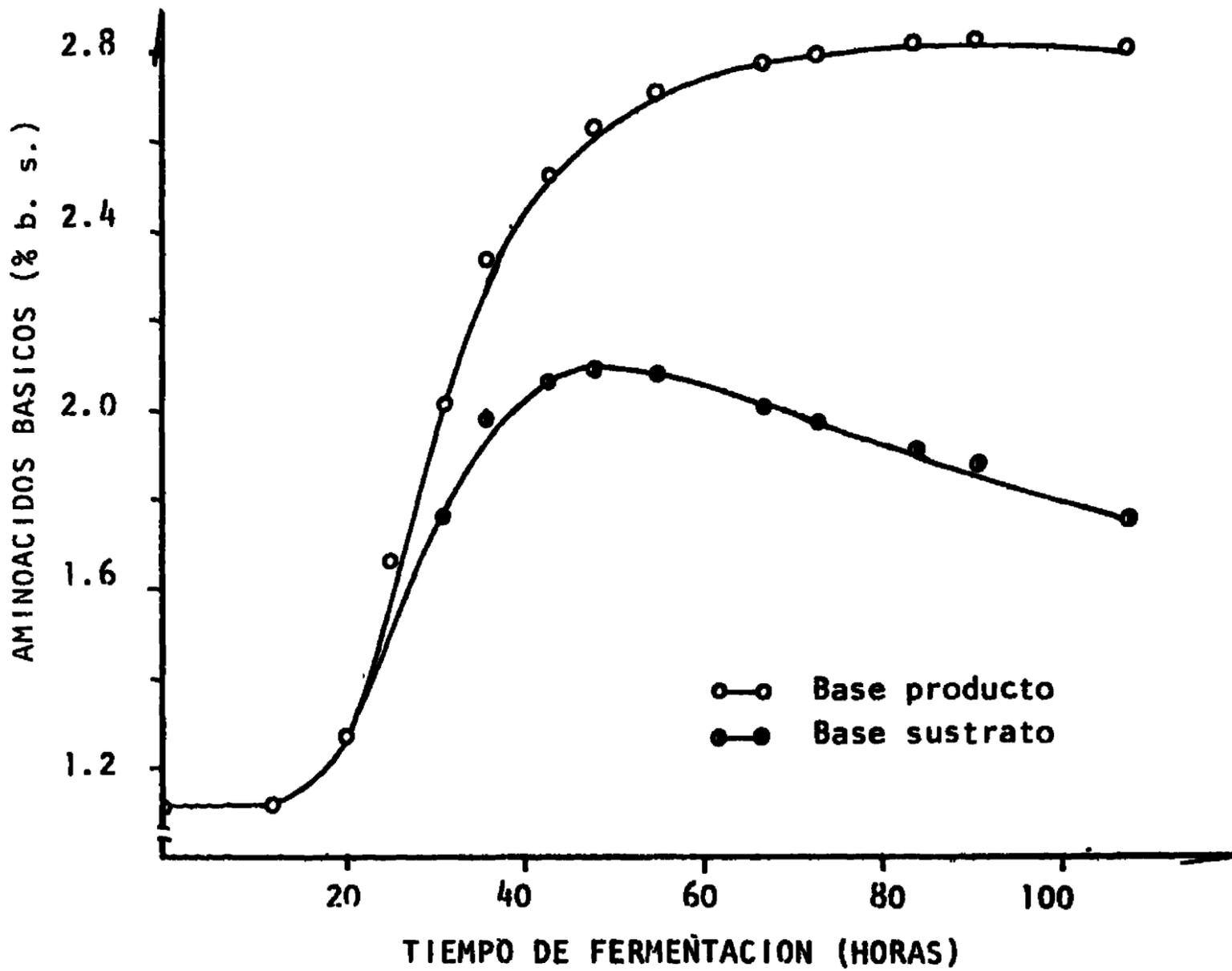
GRAFICA 2. EFECTO DE MOHO Y HUMEDAD INICIAL DEL SUSTRATO SOBRE LA FERMENTACION SOLIDA DE LA PULPA DE CAFE POR 67 HORAS A 35°C



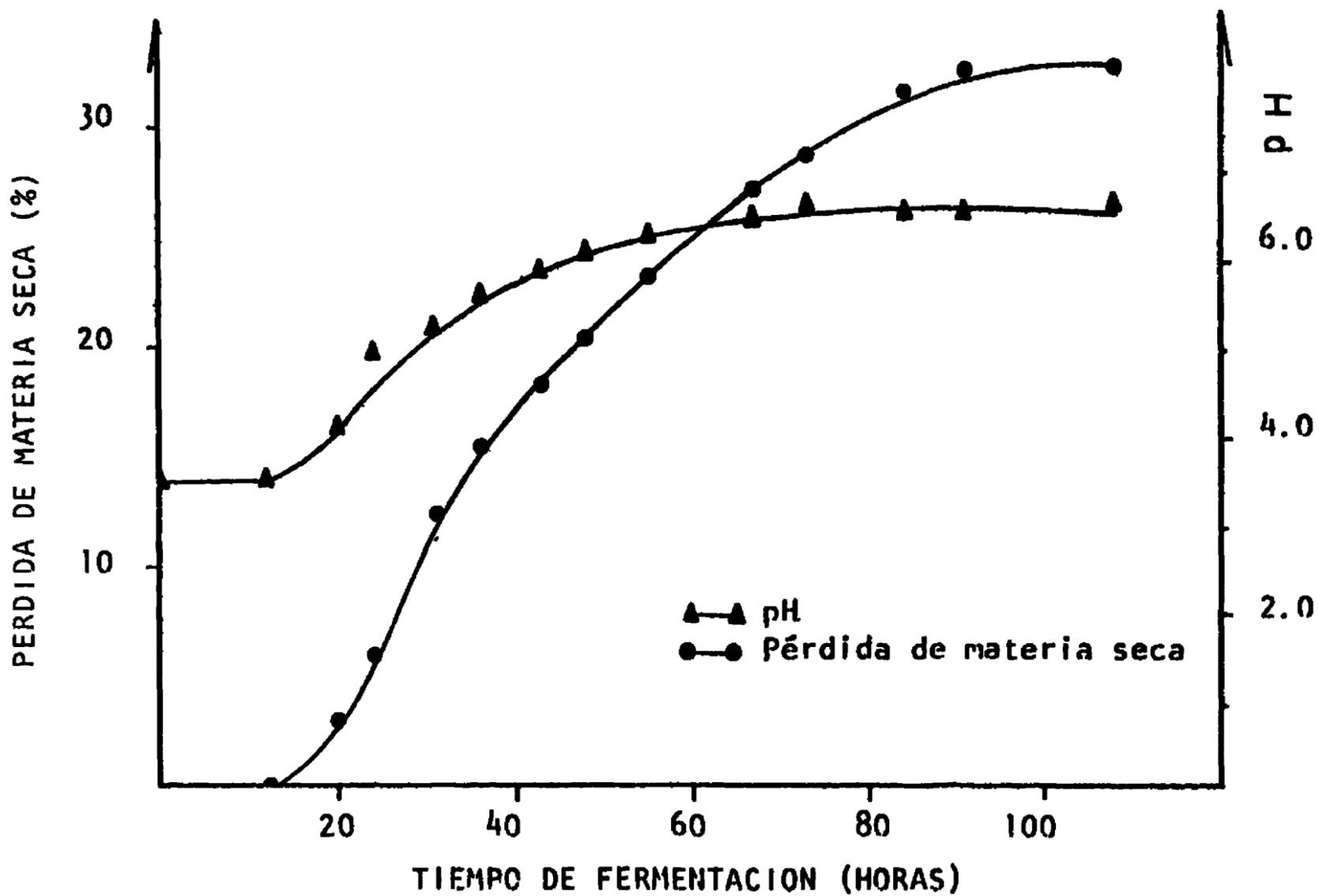
GRAFICA 3. INFLUENCIA DE LA HUMEDAD INICIAL Y DE LA TEMPERATURA DE FERMENTACION SOBRE EL CRECIMIENTO DE A. NIGER DURANTE 67 HORAS EN PULPA DE CAFE



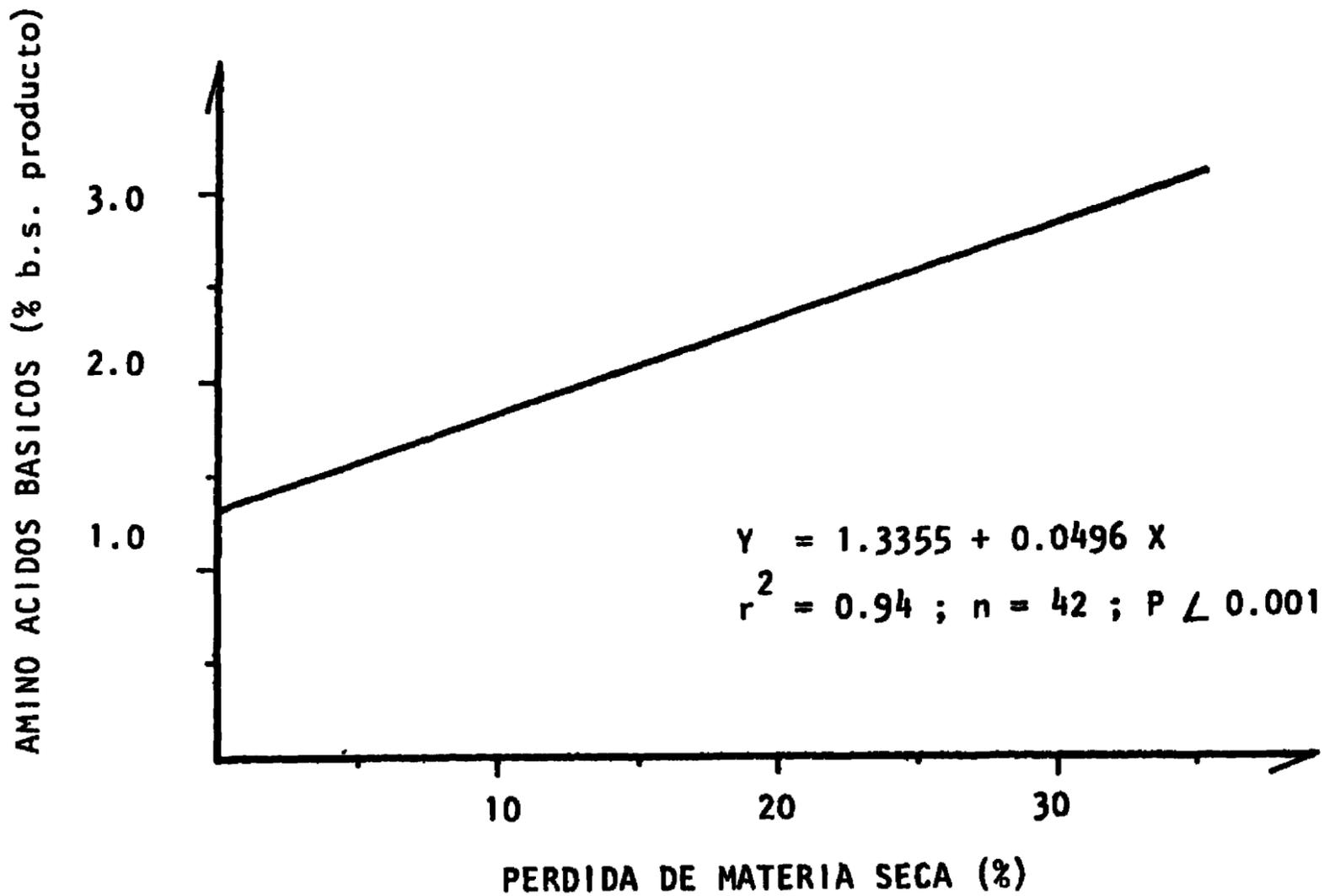
GRAFICA 4. CINETICA DE FERMENTACION SOLIDA EN PULPA DE CAFE CON A. niger EN FUNCION DEL CONTENIDO DE AMINOACIDOS BASICOS



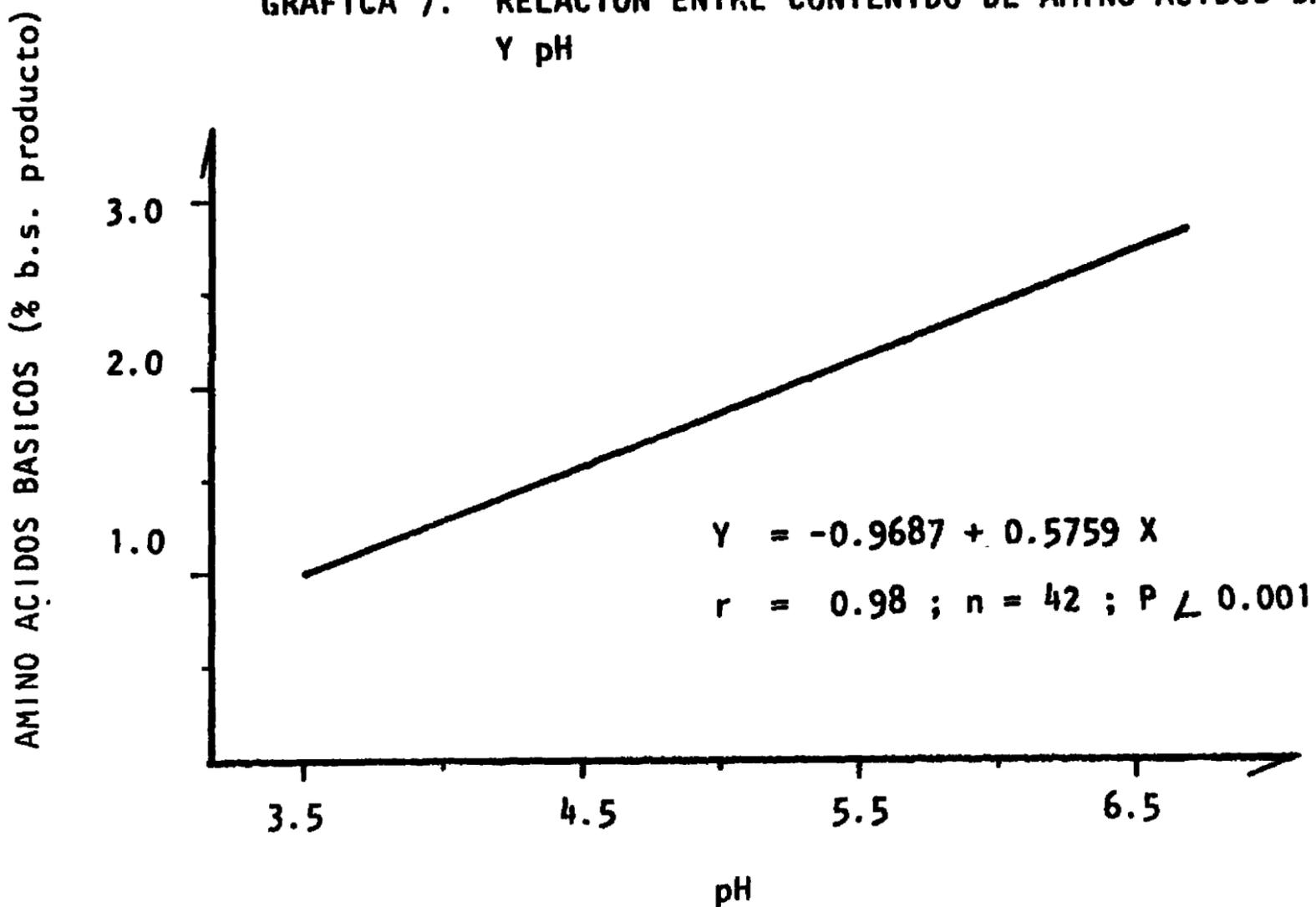
GRAFICA 5. VARIACIONES DE pH Y PERDIDA DE MATERIA SECA EN LA FERMENTACION SOLIDA DE PULPA DE CAFE CON A. niger



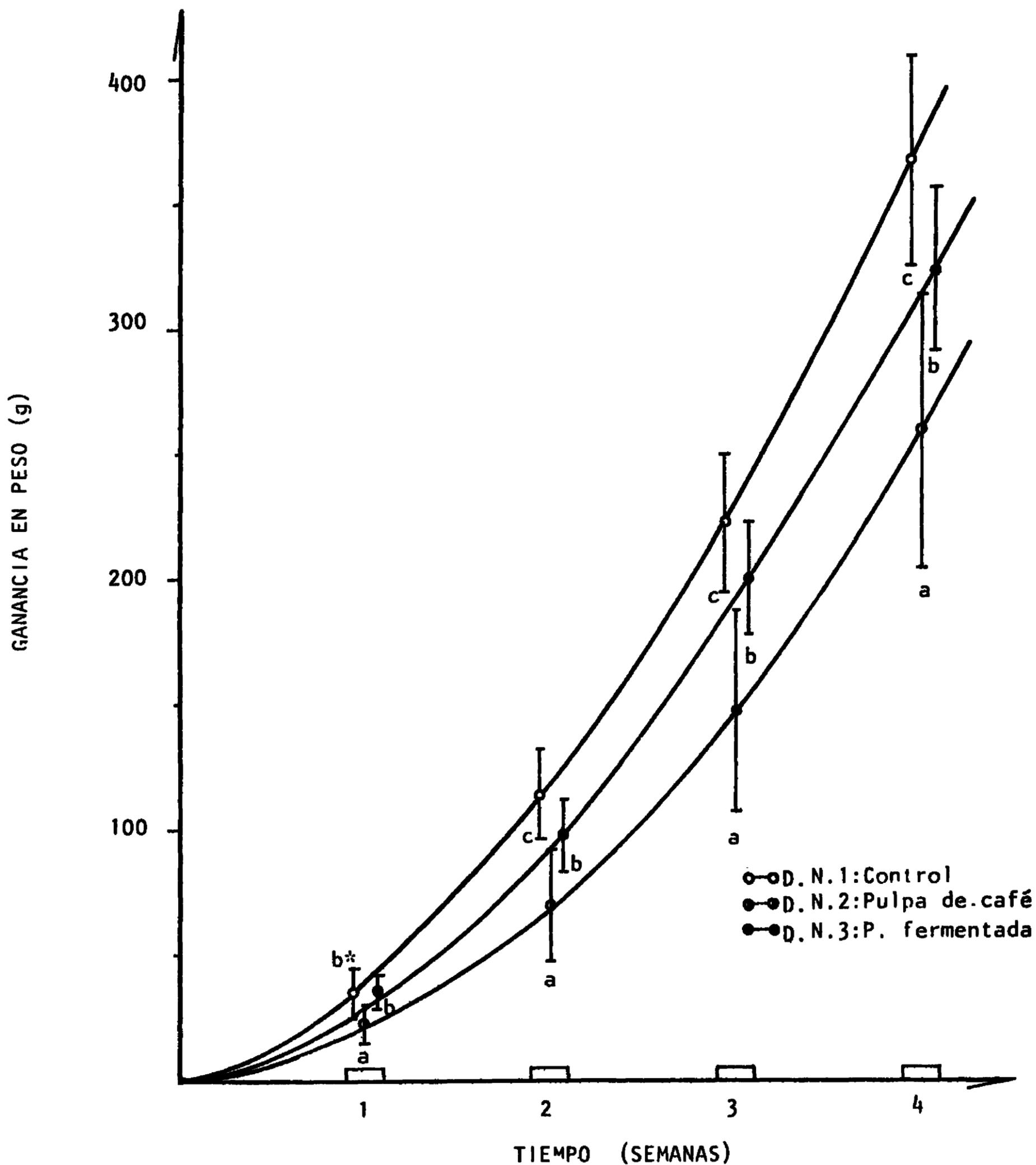
GRAFICA 6. RELACION ENTRE CONTENIDO DE AMINOACIDOS BASICOS Y PERDIDA DE MATERIA SECA



GRAFICA 7. RELACION ENTRE CONTENIDO DE AMINO ACIDOS BASICOS Y pH

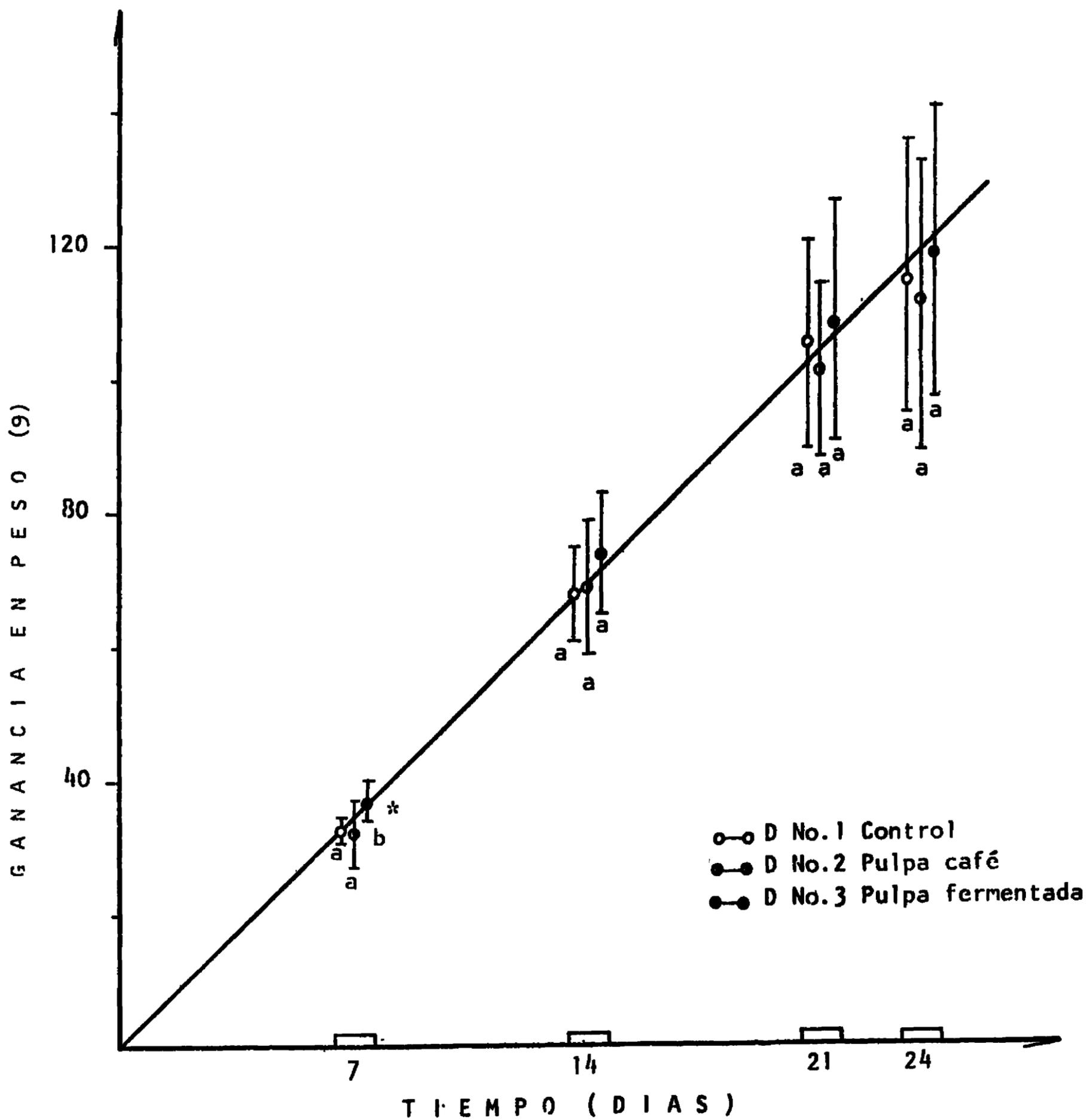


GRAFICA 8. GANANCIA EN PESO DE POLLOS EN CRECIMIENTO ALIMENTADOS CON RACIONES QUE INCLUYEN 10% DE PULPA DE CAFE FERMENTADA Y SIN FERMENTAR

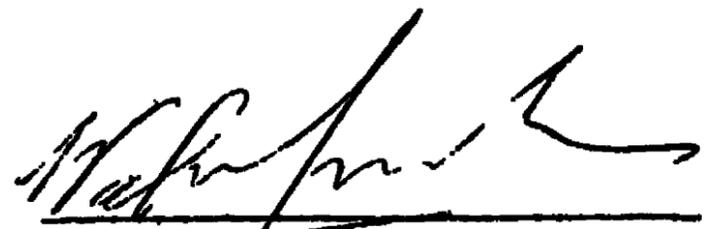


* Letras diferentes a la misma semana indican diferencia significativa al 5%.

GRAFICA 9. GANANCIA EN PESO DE RATAS ALIMENTADAS CON RACIONES QUE INCLUYEN 10% DE PULPA DE CAFE FERMENTADA Y SIN FERMENTAR.

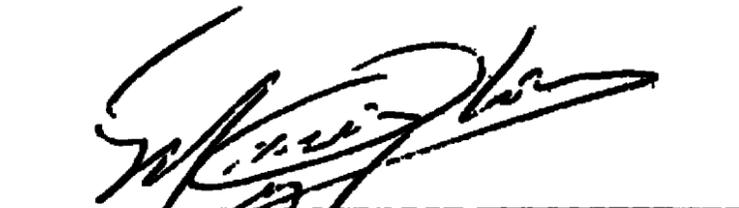


* Letras diferentes a un mismo tiempo indican significancia al 5%

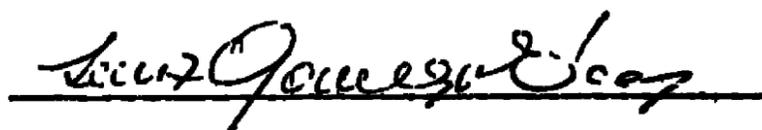


Walter Peñaloza Izurieta

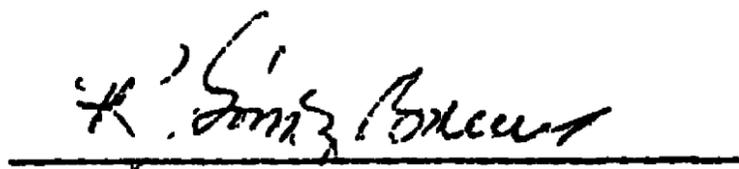
Vo. Bo. Comité de Tesis



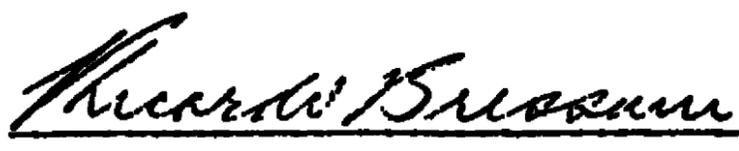
Dr. Mario R. Molina



Dr. Luiz G. Elías

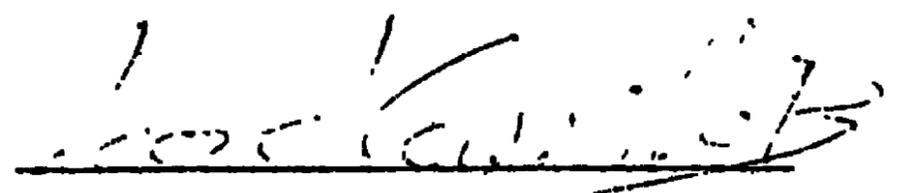


Dr. Roberto Gómez Brenes



Dr. Ricardo Bressani

Imprímase:



Lic. Leonel Carrillo Reeves
Decano de la Facultad de
Ciencias Químicas y Farmacia