

Hidrólisis ácida y caracterización de carbohidratos de la pulpa de café.¹

Acid hydrolysis and carbohydrates characterization of coffee pulp.

Gladys Urbaneja²
José R. Ferrer³
Gisela Pérez³
Lilia Arenas de Moreno⁴
Gilberto Colina⁴
Luis Sandoval⁴

Resumen

Se estudió la hidrólisis de pulpa de café con ácido sulfúrico diluido manteniendo temperatura de ebullición a reflujo, una relación líquido: sólido de 10:1 y el tamaño de partícula ≤ 1.00 mm. La pulpa de café fue tratada variando las concentraciones (C) de ácido, de 0.5 al 2.0 % (p/v) y los tiempos de reacción (T) de 30 a 240 min. Los hidrolizados se analizaron para determinar azúcares totales por el método fenol ácido y por HPLC (ATFA y ATHPLC), azúcares reductores (AR) por DNS y azúcares neutros por HPLC. Los contenidos de pentosas estuvieron representados por la xilosa y la arabinosa; la composición de hexosas por fructosa y glucosa y los disacáridos fueron sacarosa y maltosa. El análisis de los resultados se realizó mediante el paquete estadístico "Statistical Analysis System" (SAS). Los contenidos de azúcares, mostraron diferencias significativas ($P \leq .01$) respecto a las concentraciones de ácido, excepto la sacarosa. Los tiempos de reacción afectaron significativamente a todas las variables ($P \leq .05$) a excepción de sacarosa, xilosa y ATFA. La interacción C*T afectó las variables estudiadas excepto al contenido de xilosa, fructosa y maltosa. Los rendimientos fueron: ATHPLC entre 12.87-20.31 % y 14.02-19.01 %; ATFA entre 23.41-19.07 % y 25.74-30.58 %; AR entre 10.24-19.07 % y 9.66-17.85 % para C y T respectivamente, todos expresados en g/100 g de pulpa seca original. El rango general de variaciones para los azúcares

Recibido el 21-02-1996 • Aceptado el 10-12-1996

1. Proyecto No. 0195-94 subvencionado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CONDES).

2. Núcleo Universitario Rafael Rangel, Universidad de los Andes, Trujillo, Venezuela. Telefax 58-72-711230.

3. Laboratorio de Fermentaciones Industriales. Departamento de Ingeniería Bioquímica. Facultad de Ingeniería. Universidad del Zulia. P.O. Box 4011-A-526. Maracaibo. Venezuela.

4. Facultad de Agronomía. La Universidad del Zulia. P.O.Box 15205. Maracaibo, ZU 4005. Venezuela.

neutras fue: xilosa de 0.08 a 3.26 g/L; arabinosa de 0.23 a 11.26 g/L; fructosa de 0.90 a 3.00 g/L y glucosa de 1.30 a 6.31 g/L. La sacarosa varió entre 0.08 y 3.96 y la maltosa entre 0.01 y 3.50; igualmente expresadas en g/L de hidrolizado. La eficiencia global de la hidrólisis fue 64 % para ATFA y 67 % para AR.

Palabras claves: Pulpa de café, hidrólisis, carbohidratos, HPLC.

Abstract

Hydrolysis of coffee pulp with diluted sulphuric acid was studied keeping boiling temperature with reflux, a liquid to solid ratio of 10:1 and a particle size ≤ 1.00 mm. Coffee pulp was treated using several acid concentration (C) and reaction times (T) of 0.5-2.0 % (p/v) and 30-240 min, respectively. The hydrolysates were analyzed for total sugars by phenol-acid method and HPLC (TSPA and TSHPLC), reducing sugars (RS) by DNS and neutral sugars by HPLC. The pentose contents consisted of arabinose and xilose; the hexoses composition was fructose and glucose and the disaccharides were sucrose and maltose. Data were analysed using the Statistical Analysis System (SAS). All sugars contents showed significant differences ($P < .01$) with acid concentrations, except sucrose. The analysis for reaction times also showed significant differences for all variables ($P < .05$), except for sucrose; xilose and TSPA. Studied variables were significantly affected ($P < .01$) for the C*T interaction, except xilose, fructose and maltose. The average sugar yields were: TSHPLC between 12.87-20.31 % and 14.02-19.01 %; TSPA between 23.41-19.07 % and 25.74-30.58 %; RS between 10.24-19.07 % and 9.66-17.80 % for C and T, respectively, expressed as g/100g of dry coffee pulp. The general range of variations for neutral sugars was: xilose from 0.08 to 3.26 g/L; arabinose from 0.23 to 11.26 g/L; fructose from 0.90 to 3.00 g/L and glucose from 1.30 to 6.31 g/L. The sucrose varied between 0.08 and 3.96 and maltose between 0.01 and 3.50, also expressed in g/L of hydrolysate. The overall efficiency of hydrolysis was 64 % for TSPA and 67 % for RS.

Key words: Coffee pulp, hydrolysis, carbohydrates, HPLC.

Introducción

La utilización de materiales lignocelulósicos ha sido investigada intensamente, debido a que éstos representan el mayor componente de los residuos agrícolas y desechos agroindustriales y una fuente abundante y segura de recursos renovables a través de la fotosíntesis.

Sin embargo actualmente en Venezuela, estos desechos están siendo

sub-utilizados causando serios problemas de contaminación ambiental, a pesar que son potencialmente buenos para ser usados como materia prima en la producción de: combustible, azúcar, alimento para animales, biomasa microbiana, etc. (1).

La pulpa de café representa el más abundante desecho producido durante el despulpado del fruto de café,

proceso que separa el grano del epicarpio (pulpa) y parte del mesocarpio (mucilago). Se estima que la pulpa de café representa un 40 % de varios millones de toneladas de café cereza procesados "por vía húmeda" en México, Centroamérica y Colombia (3). En Venezuela se ha estimado una disponibilidad de $1.07-1.5 \times 10^5$ t obtenidos en centrales de beneficio húmedo en los cuales se procesa un 77% de la producción nacional de café (13,7).

El aprovechamiento de la pulpa y otros sub-productos resulta una prioridad para países productores de café por razones económicas, ecológicas y sociales.

Estudios recientes reportan la utilización de procesos de fermentación en sustrato sólido, como vía para mejorar el valor nutritivo de la pulpa

(12) y para obtener pectinasa para cubrir la demanda industrial de ese producto (3).

Durante años se ha dedicado atención al uso de procesos de hidrólisis ácida y enzimática, para convertir los residuos lignocelulósicos en azúcares fermentables para obtención de etanol, proteína unicelular y diversos productos químicos. Hasta el presente, la hidrólisis ácida es la que ha sido implementada con éxito a nivel comercial.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la hidrólisis ácida de la pulpa de café, determinando la influencia de la concentración del ácido y del tiempo de reacción, caracterizando y cuantificando los carbohidratos presentes en los hidrolizados utilizando HPLC, fenol-ácido y DNS.

Materiales y métodos

Fuentes de pulpa de café. El café variedad caturra rojo, fue cosechado en una plantación en las cercanías del complejo de beneficio y torrefactoría, perteneciente a la PACCA-Escuque, en el Municipio Escuque del Estado Trujillo, Venezuela.

La pulpa seca fue molida y tamizada (W. S Tyler Incorporate USA), seleccionando una fracción homogénea con tamaño de partícula ≤ 1.00 mm. Las muestras así preparadas fueron conservadas en bolsas plásticas con cierre hermético a temperatura ambiente, hasta ser utilizadas en los diferentes tratamientos.

Hidrólisis ácida

Hidrólisis con ácido diluido.

La hidrólisis se llevó a cabo en fiolas de 125 mL., mezclando la pulpa de café con las soluciones de H_2SO_4 calentadas previamente. Se utilizaron concentraciones de ácido de 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 (p/v), en una relación 1/10 (peso de pulpa seca/volumen de ácido diluido); operando a presión atmosférica con ebullición a reflujo, durante un tiempo prefijado (30, 60, 120, 180 y 240 min.).

Hidrólisis total. Se llevó a cabo el procedimiento descrito por Hoerber *et al.* (9), mezclando tres muestras de pulpa de café de 0.1 g c/u, en 1.25 mL de H_2SO_4 72 % (p/p) con agitador de

vidrio a temperatura ambiente, durante 30 min. La hidrólisis secundaria se desarrolló diluyendo la mezcla anterior con 13.5 mL de agua, sometiéndola durante 240 min a ebullición por reflujo.

Métodos de análisis

Análisis por HPLC (ATHPLC).

Los extractos líquidos de los hidrolizados de pulpa de café se analizaron, para determinar la concentración de azúcares simples utilizando un cromatógrafo líquido de alta presión (HPLC), Shimadzu Corporation, modelo LC-10AD, acoplado a un refractómetro diferencial modelo RID-6A. El equipo incluye a) una unidad degasificadora modelo DGU-2A; b) un distribuidor de solvente modelo FCV-10A1; c) un horno para columna modelo CTO-10A; d) un inyector tipo válvula de Reodine con un "loop" de 20 μ L y e) un integrador computarizado modelo C-R7A. Se empleó una columna de acero inoxidable, 250 mm x 4.0 mm, Lichrospher 100 NH₂ 5 μ m (Chomatography Merck), para analizar cualitativa y cuantitativamente los azúcares presentes. La separación isocrática de los azúcares se desarrolló a una temperatura de 30 °C, con una fase móvil compuesta por 75 % acetonitrilo grado HPLC (Mallinckrodt ChormAR HPLC) y 25 % de agua bidestilada, previamente filtrada a través de un filtro de membrana de 0.45 μ m y degasificada, a una velocidad de flujo de 1 mL/min.

La caracterización y cuantificación de azúcares simples y totales en cada hidrolizado de pulpa de café, se efectuó mediante la comparación de los tiempos de retención y las áreas de los picos de las muestras, con los de

soluciones patrones de xilosa, arabinosa, fructosa, glucosa, sacarosa y maltosa (Carbohydrates Standards, Sigma Chemical Co.), siguiendo la metodología optimizada por Arenas de M. *et al.* (4).

Azúcares totales (ATFA). La concentración total de azúcares se determinó mediante el método Fenol-Ácido Sulfúrico (6) con glucosa como estándar, utilizando un espectrofotómetro UV-Vis Shimadzu UV-2101PC, a 490 nm.

Azúcares Reductores (AR). El contenido de azúcares reductores presentes en los hidrolizados se estimó usando el método de ácido 3,5-Dinitro-Salicílico (DNS) (11), con glucosa como estándar. La absorbancia se midió en el espectrofotómetro UV-Vis, a 584 nm.

Determinación de Sólidos Solubles. El residuo en el papel de filtro se coloca en una estufa a 105 °C durante la noche, o hasta obtener peso constante; y por diferencia con el peso seco en el material inicial, se determinan los sólidos solubilizados durante la hidrólisis.

Análisis estadístico. Todas las técnicas de análisis estadístico fueron realizadas haciendo uso del paquete estadístico "Statistical Analysis System" (SAS)(14).

Para facilitar la interpretación de los resultados obtenidos para las variables estudiadas, tanto para la concentración de ácido (C) como para los tiempos de tratamiento (T) así como para la interacción concentración-tiempo (C x T); se procedió a realizar el Análisis de Varianza (ANDEVA) y las pruebas de medias. El Rango Estudentizado de Tukey se aplicó para

un efecto principal sólo (C o T), sobre cada variable que presentó uniforme el número de observaciones (n) por cada tratamiento, en tanto que le

método de los cuadrados medios mínimos se tomó para estudiar un efecto principal en aquellas variables que presentaron desbalances ($N < 60$)

Resultados y discusión

El cuadro 1 muestra la variación general de las concentraciones (g/L) de los azúcares para la totalidad de las observaciones realizadas. La arabinosa aparece con la mayor concentración; con una media de 3.54 g/L, seguida de la glucosa y la fructosa con 2.40 g/L y 1.78 g/L, respectivamente. La xilosa es el monosacárido con más bajo valor promedio (0.99 g/L). Esta tendencia se mantuvo a lo largo de todos los ensayos, tal como se refleja en los cuadros 4 y 5 donde se muestran las variaciones generales para las distintas concentraciones de H_2SO_4 y tiempos seleccionados.

Estos resultados difieren de la mayoría de estudios sobre hidrólisis de residuos lignocelulósicos, donde se

muestra a la xilosa como la pentosa predominante en la hemicelulosa y por tanto se libera con mayor facilidad. En cuanto a la glucosa se coincide con los reportes que la señalan como la hexosa presente más comunmente y en mayor proporción entre los azúcares de seis carbonos extraídas durante las hidrólisis (5, 10).

Los disacáridos identificados en los hidrolizados fueron sacarosa y maltosa; con el primero de estos carbohidratos presente en mayor concentración en la casi totalidad de las observaciones, tal como se reporta en los cuadros 1, 4 y 5.

En el cuadro 1, se muestran los rangos generales de variación para (ATHPLC, ATFA y AR); observándose

Cuadro 1. Rangos de variación de los contenidos de azúcares (g/L) en hidrolizados de pulpa de café.

Azúcares	n	Mínimo	Máximo	Media	S
Xilosa	55	0.08	3.23	0.99	0.79
Arabinosa	54	0.23	11.26	3.54	2.16
Fructosa	60	0.90	3.00	1.78	0.47
Glucosa	60	1.30	6.31	2.40	1.01
Sacarosa	59	0.08	3.96	1.14	0.91
Maltosa	58	0.01	3.50	0.74	0.75
ATHPLC	60	4.23	16.84	9.51	3.29
ATFA	60	7.18	31.96	17.07	5.82
AR	60	0.65	21.81	9.21	3.97

ATHPLC: Azúcares totales por HPLC. ATFA: Azúcares totales por Fenol Ácido. AR: Azúcares Reductores. N: Número de observaciones.

valores promedios muy similares para ATHPLC y AR de 9.51 y 9.21 g/L respectivamente. Los valores de ATFA casi doblan a los anteriores (17.07 g/L). Las diferencias observadas entre los diferentes métodos aplicados (HPLC y espectrofotométrico), la explica la posibilidad de absorción de otros compuestos diferentes a los carbohidratos presentes en los hidrolizados, a las longitudes de onda utilizadas para la determinación de ATFA y AR.

Las cuadros 2 y 3 muestran las concentraciones en g/L de los azúcares totales y reductores presentes en los hidrolizados de pulpa de café para todo el rango de concentraciones y tiempos.

La prueba de medias para las variables que presentaron interacciones C x T significativas ($P < .01$), están basadas en los cuadrados medios mínimos; sólo sacarosa mostró significancia divergente ($P < .05$) para el efecto C. En cuanto a la maltosa, el análisis de varianza indicó un coeficiente de variación muy alto (C.V = 51.62%) por lo que se omitió la prueba de medias para esta variable.

En el caso de la glucosa, los

resultados presentan un promedio general de 2.40 g/L con variaciones entre 1.86-3.46 g/L para el efecto concentración de H_2SO_4 y 1.79-3.12 g/L para el efecto tiempo (cuadros 1, 4 y 5).

Los rendimientos generales en glucosa obtenidos en g/100 g de pulpa seca, aumentando la concentración del azúcar a mayor concentración de ácido y a mayores tiempos, permite establecer que la glucosa, para las condiciones de operación utilizadas, no se ve afectada por procesos de descomposición ya que el mayor rendimiento alcanzado de 9.43 % se produce a 2.0 % H_2SO_4 y 240 min.

El análisis de varianza para la glucosa muestra significancia ($P < .01$) para las concentraciones de ácido, para el tiempo y para la interacción de éstos (cuadro 6). En el cuadro 7 aparecen dos grupos, el primero muestra variaciones significativas con el segundo ($P < .05$), con rango de 1.86 g/L-3/46 g/L para las concentraciones de H_2SO_4 .

En el cuadro 8 podemos separar las medias en tres grupos diferentes ($P < .05$) entre sí; el primero para el rango de concentraciones de glucosa de 1.793-2.317 g/L, diferente al valor de

Cuadro 2. Contenidos de azúcares^a (g/L) en hidrolizados de pulpa de café para diferentes concentraciones de H_2SO_4 .

Azúcares	H_2SO_4 % (p/v)			
	0.5	1.0	1.5	2.0
ATHPLC	7.72 ± 4.18	9.51 ± 2.33	8.63 ± 2.05	12.19 ± 2.59
ATFA	18.51 ± 8.03	14.05 ± 3.35	17.38 ± 4.02	18.32 - 6.10
AR	6.15 ± 2.59	7.80 ± 2.31	11.43 ± 3.51	11.45 ± 4.41

a: Valores promedios de tres determinaciones por c/u de las tres réplicas ± desviación estándar.

Cuadro 3. Contenidos de azúcares^a (g/L) en hidrolizados de pulpa de café para diferentes tiempos de hidrólisis.

Azúcares	Tiempo de hidrólisis				
	30	60	120	180	240
ATHPLC	8.41 ± 2.73	8.88 ± 2.13	11.41 ± 3.91	9.31 ± 3.21	9.56 ± 3.85
ATFA	15.45 ± 4.50	16.84 ± 7.19	17.29 ± 3.62	17.40 ± 5.89	18.35 ± 7.55
AR	5.80 ± 2.84	9.54 ± 3.65	10.68 ± 4.87	9.81 ± 2.77	10.21 ± 3.90

a: Valores promedios de tres determinaciones por c/u de las tres réplicas ± desviación estándar.

2.526 g/L y éste a su vez difiere de 3.123 g/L.

La interacción C x T arrojó diferencias significativas ($P < .05$) observándose la variación más acentuada al pasar del rango 0.5-1.5 % a 2 % H_2SO_4 , donde se muestran los mayores valores obtenidos para las concentraciones de glucosa en cada uno de los tiempos (cuadro 9).

El rango de variación mayor correspondió a la interacción de 2.0 % H_2SO_4 con todos los tiempos (1.84 g/L-5.66 g/L).

Estos resultados podrían interpretarse como aceptables al compa-

rarlos con los de estudios que señalan concentraciones entre 5.2-8.6 g/L, pero trabajando a temperaturas mayores (180-190 °C) hidrolizando maderas (5); o los señalados por González *et al.*, (8) en la hidrólisis de paja de trigo con H_2SO_4 al 2 % y a 90 °C, para obtener una importante solubilización de pentosa y una concentración de glucosa menor (2 g/L) para un tiempo de 10 horas.

Estudios anteriores para hidrólisis de pulpa de café son escasos y no reportan en forma individual valores para concentraciones de este azúcar. Sólo el trabajo de Andren *et al.* (2) sobre

Cuadro 4. Contenidos de azúcares^a (g/L) en hidrolizados de pulpa de café para diferentes concentraciones de H_2SO_4 .

Azúcares	H_2SO_4 % (P/V)			
	0.5	1.0	1.5	2.0
Xilosa	0.40 ± 0.23	0.71 ± 0.53	0.85 ± 0.66	1.96 ± 0.61
Arabinosa	4.11 ± 4.14	3.01 ± 0.49	3.03 ± 1.75	4.26 ± 1.45
Fructosa	1.98 ± 0.46	1.91 ± 0.37	1.60 ± 0.58	1.65 ± 0.37
Glucosa	1.86 ± 0.63	2.21 ± 0.46	2.07 ± 0.31	3.46 ± 1.37
Sacarosa	0.67 ± 0.42	1.42 ± 1.19	1.16 ± 0.75	1.32 ± 0.99
Maltosa	0.47 ± 0.68	0.95 ± 0.85	0.64 ± 0.88	0.86 ± 0.50

a: Valores promedios de tres determinaciones por c/u de las tres réplicas ± desviación estándar.

Cuadro 5. Contenidos de azúcares^a (g/L) en hidrolizados de pulpa de café para diferentes tiempos de hidrólisis.

Azúcares	Tiempo de hidrólisis				
	30	60	120	180	240
Xilosa	0.87 ± 0.73	1.06 ± 0.79	1.20 ± 0.95	0.80 ± 0.75	1.05 ± 0.79
Arabinosa	3.47 ± 2.14	3.51 ± 0.59	5.10 ± 3.31	2.51 ± 0.66	3.11 ± 1.85
Fructosa	2.17 ± 0.54	2.04 ± 0.39	1.61 ± 0.40	1.71 ± 0.24	1.40 ± 0.33
Glucosa	1.79 ± 0.27	2.24 ± 0.38	2.32 ± 0.78	2.53 ± 0.83	3.12 ± 1.70
Sacarosa	1.62 ± 1.09	0.87 ± 0.54	0.86 ± 0.64	1.47 ± 1.32	0.90 ± 0.55
Maltosa	0.55 ± 0.40	0.63 ± 0.40	1.28 ± 1.20	0.66 ± 0.35	0.57 ± 0.83

a. Valores promedios de tres determinaciones por *c/u* de las tres réplicas ± desviación estándar.

Cuadro 6. Análisis de varianza¹ para el contenido de glucosa (g/L) en hidrolizados de pulpa de café.

Fuente de variación	GL	Suma de cuadrados	F
Concentración ²	3	67.59796071	28.45**
Tiempo ³	4	30.14355431	9.52**
Conc. x Tiempo	12	36.88840999	3.88**
Error experimental	40	31.67754891	
Total	59	166.30747393	

R² = 0.809524 C. V. = 10.16 %

** : significativo P < .01. 1: Análisis basado en 60 observaciones y usando la transformación Arcoseno ($\sqrt{x}/100$). 2: Concentraciones de ácido sulfúrico % (p/v). 3: Tiempo medido en minutos.

Cuadro 7. Prueba de medias¹ para la concentración² de glucosa en hidrolizados de pulpa de café.

H ₂ SO ₄ % (p/v)	Concentración de glucosa
0.5	1.862 ^b
1.0	2.209 ^b
1.5	2.067 ^b
2.0	3.465 ^a

1. Prueba de medidas por Rango Estudentizado de Tukey. 2. Expresada en g/L. a, b: Medias con letras iguales no son significativamente diferentes (P < .05).

Cuadro 8. Pruebas de medias¹ para la concentración² de glucosa en hidrolizados de pulpa de café.

Tiempo (min)	Concentración de glucosa
30	1.793 ^c
60	2.243 ^{bc}
120	2.317 ^{bc}
180	2.526 ^b
240	3.123 ^a

1: Prueba de rango estudentizado de Tukey. 2: Expresada en g/L. a, b, c: Medias con letras iguales no son significativamente diferentes ($P < .05$).

Cuadro 9. Pruebas de medias¹ para la concentración² de glucosa en hidrolizados de pulpa de café.

Tiempo (min)	H ₂ SO ₄ % (p/v)			
	0.5	1.0	1.5	2.0
30	1.67 ^g	1.88 ^{efg}	1.78 ^{fg}	1.84 ^{efg}
60	1.83 ^{efg}	2.05 ^{defg}	2.39 ^{defg}	2.70 ^{cd}
120	1.77 ^{fg}	1.99 ^{defg}	2.09 ^{defg}	3.43 ^{bc}
180	1.79 ^{fg}	2.59 ^{de}	2.03 ^{defg}	3.70 ^b
240	2.26 ^{defg}	2.53 ^{def}	2.04 ^{defg}	5.66 ^a

1. Por el método de los cuadrados medios mínimos. 2. Expresada en g/L. Medias cuadráticas con letras iguales no son significativamente diferentes ($P < .05$). Error estándar de la media = ± 0.28.

sacarificación enzimática de diversos sustatos lignocelulósicos presenta resultados entre 2.6 y 4.0 g/L de glucosa para pulpa de café fresca en un tiempo de 48 horas.

En cuanto a otros residuos lignocelulósicos, Wilke *et al.* (15) trabajando con hidrólisis ácida de desechos de maíz, reporta 1.9 y 3.2 % de glucosa y hexosas, respectivamente.

Conclusiones

La hidrólisis de la pulpa de café utilizando H₂SO₄ diluido a temperatura de ebullición, con reflujo, es un método eficaz para solubilizar los carbohidratos presentes en este residuo lignocelulósico.

La técnica de HPLC, resultó ser rápida y confiable, identificándose seis azúcares, cuatro monosacáridos: xilosa, arabinosa, fructosa y glucosa y dos disacáridos: sacarosa y maltosa. La separación de las distintas fraccio-

nes se produjo en orden creciente del peso molecular.

Los azúcares ATHPLC, ATFA y AR muestran variación en sus concentraciones ($P < .01$), con los efectos de concentración de ácido, tiempo y la interacción de ellos (C, T y C x T); excepto para ATFA que no presentó variaciones significativas para T. Los rangos de variación promedio para los rendimientos fueron: 12.87-20.31 % y 14.20-19.1 % para ATHPLC; 23.41-19.07 % y 25.74-30.58 % para ATFA y 10.24-19.07 % y 9.66-17.80 % para AR.

La glucosa fue el azúcar que tuvo las respuestas más seguras y confiables para todas las observaciones. La variación de su concentración en los hidrolizados mostró diferencias significativas para C, T y C x T ($P < .01$).

Sus rangos de variación creciente estuvieron entre 3.10-5.77 % y 2.9-5.2 % para sus rendimientos, en función de C y T. Su concentración osciló entre 1.67 g/L para 0.5 % H_2SO_4 y 30 min. y 5.65 g/L para 2.0 % H_2SO_4 y 240 min.

Se estima que no hubo alta producción de compuestos derivados de la descomposición, pues los azúcares precursores más importantes incrementaron sus concentraciones a través de todos los ensayos. Sin embargo, debería medirse los niveles de producción de esos compuestos en futuros estudios.

La eficiencia del proceso de hidrólisis en términos de ATFA y AR fue 64 % para ATFA y un 67 % para AR

Literatura citada

1. Alvarez, M. D., M. Ramírez, V. Carrizales. 1988. Primer Informe Técnico sobre la Disponibilidad y Localización de Residuos Lignocelulósicos en Venezuela. Programa Regional de Biotecnología para América Latina y el Caribe. Comisión Nacional de Ingeniería Genética y Biotecnología.
2. Andren, R. K., M. Mandels y Modeiros, J. E. 1976. Productions of Sugars from Waste Cellulose by Enzymatic Hydrolysis: Primary Evaluation of Substrates. Proc. Biochem. 10: 2-11.
3. Antier, P., A. S. Minjares, M. Roussos. Raimbault y G. Vineagra González. 1993. Pectinase-Hiperproducing mutants of *Aspergillus niger* C28B25 for Solid-State Fermentation of Coffee Pulp. Enzyme Microb. Technol. 15:254-260.
4. Arenas de M, L., M. Marín, C. Castro de R. y L. Sandoval. 1995. Determinación por HPLC de los azúcares en los frutos de guayaba (*Psidium guajava* L.) de una plantación comercial del Municipio Mara. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 12:467-483.
5. Bergeron, P., J. D. Wright y P. J. Werdene. 1986. Biotechnol. Bioeng. 17:33-51.
6. Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers y F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugar relates substances. Anal. Chem. 28:(3) 350-356.
7. Ferrer, J. R. y V. Carrizales. 1984. Recycling agroindustrial waste by lactic fermentations: Coffee pulp silage. Lactic fermentation in the Food Industries Symposium. November. U. A.N. M. México.
8. González, G., J. López Santin, G. Caminal y C. Sola. 1986. Dilute acid Hydrolysis of Wheat Straw Hemicellulose at Moderate Temperature: A Simplified Kinetic Model. Biotechnol. Bioeng. 28:288-293.
9. Hoebler, C., J. L. Barry, A. David y Delort-Lavar. 1989. Rapid acid Hidrolisys of plant cell wall polysaccharides and simplified quantitative determination of their neutral monosaccharides by-Gas-Liquid Chromatography. J. Agric. Food Chem. 37: 360-367.

10. Jefries, T. W. 1983. Utilization of Xilose by Bacteria, Yeasts and Fungi. Ad. Biochem. Eng. Biotechnol. 27:2-32.
11. Miller, G. L. 1959. Use pf Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. Anal. Chem. 31:426-428.
12. Peñaloza, W., R. M. Molina, R. Gómez-Brenes, y R. Bressani. 1985. Solid-State Fermentation: an Alternative to Improve the Nutritive Value of Coffee Pulp. Appl. Environ. Microbiol. 49(2):388-393.
13. Perdomo, G., E. Rojas. 1990. Estudio de Pre-Factibilidad Planta Procesadora de Pulpa de Café. Convenio ULA-CORPOANDES-Coordinado Gobernación.
14. SAS. 1985. SAS user's guide: Statistics (5th ed.)SAS Institute Inc., Carry N.C.
15. Wilke, C. R., R. D. Yang, A. F. Scianmanna y R. P. Freitas. 1981. Biotechnol. Bioeng. 23:163-183.