PN-ABC-877
XN-ABC-849-A

AGENCY FOR INTERNATIONAL DEVELOPMENT
WASHINGTON, D.C. 20523

DATE: December 27, 1988

MEMORANDUM

TO: AID/PPC/CDIE/DI, room 209 SA-18

FROM: AID/SCI, Victoria Ose

SUBJECT: Transmittal of AID/SCI Progress Report(s)

Attached for permanent retention/proper disposition is the following:

AID/SCI Progress Report No. 4.359 PR from 6/1/84 to 7/1/88 "Development of Solid State Fermentation to upgrade the Quality and Utilization of Coffee Pulp as Animal Feed"

Attachment

PN-ABC-8[illegible]

PROGRESS REPORT OF THE PROJECT

"DEVELOPMENT OF SOLID STATE FERMENTATION TO UPGRADE THE QUALITY AND UTILIZATION OF COFFEE PULP AS ANIMAL FEED"

Prepared by: Mario R. Molina and Ricardo Bressani

Institute of Nutrition of Central America and Panama (INCAP)
Guatemala City, Guatemala, Central America

Progress Report compiled from June 1, 1984 to July 1, 1988

I. PROJECT OBJECTIVES

As stated in the original proposal the objectives of this project are:

1. To determine the efficiency of reducing the lignin, cellulose, polyphenolic and caffeine contents of the coffee pulp through solid state fermentation using Aspergillus niger, Sporotrichum pulverulentum and Trichoderma viride alone or as a mixed inoculum.

2. To determine the amount and type of external nutrients to be added to the coffee pulp substrate to attain a maximum efficiency in the process, as established by protein synthesis and reduction of the antiphysiological factors.

3. To determine the level at which the fermented product could be used in chicken and swine rations without detecting any antiphysiological effect.

II. EXPERIMENTS CARRIED OUT

A. Raw Material

Fresh coffee pulp was collected from the coffee producing region located in the southwest of Guatemala. Considering that often coffee plantations are subjected to fumigations with fungicides having copper oxide as the active agent, care was taken to carry out a copper determination in all the batches of pulp collected for every phase of the study using the atomic spectrophotometric technique.

Every batch of coffee pulp collected was sun dried at INCA facilities. After drying the material was characterized through the

Best Available Document

analysis cited in the original proposal (proximate composition, cell wall fractionation, caffeine, polyphenols and total amino acid content), using the methods stated in the same proposal.

analysis

B. Fermentation trials at a laboratory scale

B.1 Independent and mixed inocula

Fermentation trials at the laboratory scale were run adding ammonium sulfate, urea and mono-potassium phosphate to the coffee pulp in the proportions of 7.5, 3.5 and 5.0 g per 100 g of dry material. The fermentation trials were carried out by inoculation with Aspergillus niger (strain No.10 of the Scientific and Technical Overseas Research Organization of France, ORSTOM), Trichoderma viride (T. reesei, American Type Culture Collection, ATCC, strain No.13631) and Sporotrichum pulverulentum (Phanerochaete chrysosporium, ATCC strain No.32629), both alone or as a mixed inocula (A. niger - RT. viride, A. niger-S. pulverulentum, T. viride-S. pulverulentum and A. niger-T. viride-S. pulverulentum), using 2×10^{7} viable spores of each organism in each case, per g of material. The spores were produced by slant cultures on potato dextrose agar (PDA), and inoculated in a sterile, aseptically prepared, water suspension. The substrate was adjusted to 80% moisture and the fermentation trials were carried out in glass columns immersed in a constant temperature water bath adjusted to 35 C with an aeration rate of 8 lt./min.-kg. of ambient air (Figure 1). The initial pH of the substrate was adjusted to 3.5. The trials using independent inocula were carried out for 12, 24, 36 and 48 h. while those using mixed inocula were run for 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54, 60, 66 and 72 hours. The products obtained from both type of fermentation trials (single and mixed inocula) were

subjected to dry matter, pH, polyphenols, caffeine, total amino acids and cell wall constituents analysis, using the methods cited in the original proposal.

A total of give replicates were run for each fermentation time studied with each mold or mixed inocula and for each chemical analysis.

From all the above experiments the best inoculum was selected for all further experiments. This selection was done based on the total amino acid, caffeine, polyphenols and crude fiber content of the fermented products.

B.2 Type and Amount of External Nutrients Needed to be Added

Considering that the salts added to the substrate could be an economical limiting factor for the future implementation of this alternative to improve the utilization of coffee pulp at the coffee processing site, it was considered of interest to determine the minimum amount of the mentioned salts (urea, ammonium sulfate and mono-potassium phosphate), needed to be added to attain an optimum result with the solid state fermentation using the selected inocula. This evaluation was effected using a factorial design (3 x 3 x 3) with urea (0.0, 1.5 and 2.5%), ammonium sulfate (0.0, 2.5 and 5.0%) and mono-potassium phosphate (0.0, 2.0 and 4.0%).

The fermentation trials were effected using the same conditions (35 C), 8 lt. of filtered air per min.-kg., pH 3.5 and 80% moisture in the original substrate), as previously described. The previously established optimum inoculum was used for these trials. The original salt combination (urea= 3.5%, mono-potassium phosphate= 5.0% and ammonium sulfate= 7.5%) was used as standard. The fermentation time was standarized based on the best

results obtained previously with the selected inocula. All the trials were run using five replicates.

The fermented products were subjected to total amino acids, caffeine, polyphenols, dry matter and crude fiber evaluations through the methods cited in the original proposal.

B.3 Analysis of the Data

All the data obtained both through the determination of the best inoculum, as well as during the determination of the minimum amount of salts needed to be added to the substrate for optimum results with the selected inoculum, were subjected to an analysis of variance. This analysis allowed for the selection of the best inoculum and the optimum minimum combination of salts to be added to the substrate for best results, both in growth of the organism (detected through the total amino acid determination) as well as in the detoxification of the pulp (lowering of the caffeine, polyphenolic and fiber or cell wall contents).

C. Pilot Scale Fermentation Trials

In order to obtain enough fermented material to carry out the feeding trials in chicken and swine, pilot scale fermentation trials needed to be carried out. Two types of technologies were evaluated at this scale, one a jacketted kettle fermenting unit provided with an aeration and agitation device, while the other was a simple tray fermentation technique in a constant temperature, humidity controlled, room.

C.1 Jacketted Kettle Fermenting Unit

Taking as a base the pilot scale fermenting unit described by Senez (1979), Senez et al (1980) and Raimbault (1981), an aeration and

agitation device was designed to be installed in a 40 gallon jacketted kettle, which through a solenoid valve allowed for the standarization of the fermentation temperature. The jacketted kettle used (Lee Metal Products Co., No.40A) had a utilizable volume of 0.1 m^3 which allowed for processing 114 kg of coffee pulp as substrate, since the material had a density of 1140 $kg./m^3$. The 114 kg of substrate are equivalent to approximately 22.8 kg of dry pulp.

The aeration and agitation device designed (Figure 2), was equipped with a central axis that allowed for the flow of air through it. The air supplied through the axis was dispersed at the bottom, in the perforated lower part of the two anchors as well as through the atomizer located at the bottom of the central axis. The atomizer was designed with 3.4 perforations per cm^2 (25/$inch^2$), in a total area of 41 cm^2 (6.36 $inch^2$), thus yielding a total of 159 perforations of 0.1 cm diameter each, or a total aeration area of 1.25 cm^2. The anchors presented a total area of 567.74 cm^2 (88 $inch^2$), where a total of 2,200 perforations of 0.1 cm diameter were made (3.4 perforations/cm^2.), yielding a total aeration area of 17.28 cm^2. Thus, the total aeration area obtained (atomizer plus anchors) was 18.53 cm^2.

In order to obtain an efficient aeration it was calculated that the air needed to be supplied at 1.03 atm gage pressure (15.2 psig). At such pressure the air would be able to overcome the height of the substrate,the friction in the system as well as the force of gravityand local atmospheric pressure.

The aeration and agitation device, in order to assure the proper agitation of the wet (80% moisture) substrate needed a 2.5 horse power (HP) engine.

The aeration and agitation system was constructed locally using stainless steel No.304.

To keep constant the moisture content of the substrate (80%) water was supplied at the top of the material through an atomizer. The water flux was controlled through a solenoid valve and the moisture content of the material was monitored using a Cenco moisture metering balance. Moisture determinations were carried out in duplicate every six to eight hours.

C.2 Tray Fermentation System

For this approximate technology option wooeden trays (1.0 x 1.2 x 0.1 m in height) with a plastic net (60 mesh approximately) in the bottom were used. Each tray was evaluated with a load 5.08 cm (2 inches) and 7.62 cm (3 inches) high. When using the substrate at 5.08 cm high the capacity of each tray was 68.4 kg of substrate, while when using a 7.62 cm height for the substrate the capacity increased to 102.6 kg of substrate (20.5 kg dry matter).

The trays were located inside a cabin in which the temperature was constrolled thermostatically at 35 C and the relative humidity was mantained at 80 to 85% by puting water piles and damp clothes on the floor. Aeration was constantly supplied to the environment by bubbling air through the water piles located on the floor of the cabin. The moisture content of the substrate was monitored using a Cenco moisture metering balance, with

which the moisture content of the material was measured each 5 to 8 hours At each fermentation trial smaller trays (0.2 x 0.3 x 0.1 m in height) loaded in a similar manner to that described above, were included as standards.

C.3 Characterization of the Pilot Plant Fermented Product

The coffee pulp subjected to fermentation at the pilot plant scale by the two alternatives cited above was subjected to a complete analysis. This analysis included proximate composition, caffeine, polyphenols, total amino acids, potassium and cell wall fractionation, through the methods cited in the original proposal.

The production alternative presenting the best possibilities for future implementation at a coffee production site was selected based on the composition of the final product as well as on an economical analysis of the roduction alternatives evaluated at a pilot scale and cited above.

C.4 Economical Evaluation of the Fermenting Alternatives Considered

The parameters considered for the economic evaluation of the two fermenting alternatives studied (jacketted kettle fermenting unit and tray fermenting system), were both the fixed costs (conformed by the equipment costs, installation costs, building costs and land costs) and the operational costs (raw material, water, salts to be added, energy, labor, supervision, transport, insurance, mantainance, packaging, depreciation and a 20% rentabilty of the operation). For the estimations the total annual production through both systems was fixed at 302.4 metric tons of product per year. The production units were considered located at the coffee processing site.

D. Animal Evaluations

D.1 Chickens

The evaluation of the fermented material in growing chickens was carried out using 30 chickens (3 days old) per diet, separated in three replicates of 10 chickens each, distributed according to weight. A total of ten diets were prepared, one control (maize/soybean diet), three containing the fermented product (at 5, 10 and 15% at the expense of maize), three containing the unfermented pulp (also at 5, 10 and 15% at the expense of maize), another with caffeine added at a similar percentage as that obtained in the diet of 15% pulp, the following was added with the ashes obtained from burning the 15% of dry coffee pulp, and the last one containing the caffeine, ashes and polyphenolic compounds (as tannic acid), corresponding to 15% dry pulp. The composition of the diets prepared is presented in Table 1.

The diets and water were administered ad-libitum and feed consumption was recorded weekly for a total of eight weeks. As well, the individual weights of the animals was recorded weekly. With the data the feed efficiency of each diet in every group was calculated.

D.2 Swine

In the case of swine, a total of 6 young swine (6 to 7 weeks old) per diet were used. A total of 3 diets were evaluated and the 6 animals per diet were distributed according to weight and housed individually. All the animals were pure bred (Landras). One of the three diets prepared was the control diet (based on a maize/soybean combination), the second diet contained 20% unfermented coffee pulp, while the third one was prepared with 20% of the fermented product. In the case of these last

two diets the pulp (fermented and unfermented) was added at the expense of maize. The composition of the three diets studied is presented in Table 2. Both, the diets and water were offered ad-libitum. Feed consumption and weight gain were recorded weekly, for a total of eight weeks.

D.3 Necropsies

At the end of the feeding trials three chickens and two swines, of each group, were taken to the Veterinary School from the University of San Carlos of Guatemala, where they were sacrificed and the necropsy examination was carried out in each animal. The main purpose of this examination was to determine whether any abnormalities could be observed, especially in those animals belonging to the groups fed rations containing coffee pulp and where a reduced weight gain had been observed. Histological cuts were made where any abnormality was observed and the preparations were kept for further comparisons with the animals of the other groups.

D.4 Analysis of the Data

All the data obtained in the feeding trials (both using chickens and swine) were subjected to an analysis of variance. Also, specific comparisons between groups were carried out by t tests. All the statistical methodology used was that described by Snedecor and Cochran (1978).

III. MAIN RESULTS OBTAINED

A. Composition of raw material used

The composition of the three different batches of sun dried coffee pulp used during the project so far is presented in Table 3. The values obtained in the three batches are very similar and are in accordance

with those reported in the literature for coffee pulp (Elías, 1979). It is of interest to note that the average copper content found in the three batches used is quite near to that reported in the literature (5 ppm) for this material (Elías, 1979). This finding indicates that most of the copper oxide fungicide applied in the fumigation of the coffee cherry is washed out, either by the rain or by the wet pulping process through which the pulp is obtained. The relatively low average copper content found (6.1 ppm) also indicates that the cited fumigation would not be a limiting factor for the implementation of the solid state fermentation alternative at the coffee processing site.

B. Fermentation trials at the laboratory scale

B.1 Independent Inocula

The pH, dry matter recovered, caffeine and polyphenols content of the products obtained at the different fermentation times evaluated are presented in Tables 4, 5 and 6. The dry matter recovery data indicates that A. niger is the mold showing the fermentation process, followed by T. viride and S. pulverulentum in third place. From the pH data obtained in the product after the different fermentation times studied it can be appreciated that the three molds tend to raise the pH of the substrate during the process. As can be observed (Tables 4, 5 and 6) the degree to which the pH is raised by each mold during the fermentation process follows the same pattern as the dry matter recovery data. That is why A. niger shows the higher degree of increment of the pH value of the substrate followed by T. viride and lastly by S. pulverulentum. In fact, a significant ($P<0.01$) negative linear correlation ($r= -0.75$) was found between the pH values attained and the dry matter recovered at the different fermentation times studied. The fermentation time proved to

exert a significant (P,0.01) effect on both the dry matter loss and the pH value of the final product.

From all the above it can be deduced that the mold showing the higher degree of growth activity on coffee pulp, as represented by the dry matter loss and the pH raise, is A. niger followed by T. viride and S. pulverulentum. The dry matter loss implies a utilization of the carbon source (in this case the coffe pulp) while the raising in pH has been attributed by Raimbault (1981) to a hydrolysis of urea.

The total amino acid data obtained at the different fermentation times studied for each mold (Figure 3) corroborates the above statement, indicating again that A. niger is the mold presenting the higher degree of growth and thus, yields the fermented product with the highest total amino acid (indicative of true protein) content. All three molds proved to increase significantly ($P<0.01$) the total amino acid cotnent of coffe pulp, and A. niger gave the significantly ($P<0.01$) higher yield. As may be seedn in Figure 3 all three molds significantly ($P<0.01$) reduced the ether extract content of the material, in fact, a significant ($P<0.01$) negative correlation ($r= -0.76$) was found between the increase in total amino acids and the ether extract reduction. This finding suggest that the molds are able to utilize the ether extract constituents from coffee pulp as a carbon source. Similarly, A. niger proved to be the most effective mold in significantly ($P<0.01$) reducing the crude fiber content of coffee pulp (Figure 4). This effect on the crude fiber component can be explained by the significant reduction ($P<0.01$) that the 3 microorganisms exerted on the cellulose and the neutral and acid detergent fiber components of the cell wall (Tables 7,8,9). As may be appreciated, A. niger was again the most effective in reducing the above stated cell wall constituents. Significant

($P<0.01$) negative correlations were found between the total amino acid content and the cellulose ($r= -0.87$), acid ($r= -0.81$) and neutral detergent fiber ($r= -0.76$), indicating that these cell wall constituents most probably were effectively being used as a carbon source by the different microorganisms. Also, a significant ($P<0.01$) negative correlation was found between the total amino acid content of the different products and their crude fiber content ($r= -0.89$), thus implying a similar conclusion as the one stated above. From all the above it can be deduced that A. niger is the mold that presents the best growth rate on coffee pulp from the 3 organisms tested, and also A. niger is the mold that is able to utilize in a much better manner the different constituents available in coffee pulp.

It is evident that none of the 3 molds tested was able to reduce the lignin constituent of the cell wall (Tables 7,8,9). In the case of S. pulverulentum, which is known for its lignolytic ability (George and Ghose, 1983; von Hofsten, 1976) it has been reported that shows a lignase activity in cultures limited in nitrogen sources or carbohydrates (Faison and Kirk, 1985). Further, it has been also stated by the same authors that the lignin hydrolysis is suppressed by excess nutrients (Faison and Kirk, 1985). Therefore, it is conceivable that in the coffee pulp substrate, rich in soluble carbohydrates (Elias, 1979), which was added with urea (3.5%), ammoniumsulfate (7.5%) and mono-potassium phosphate (5.0%); the lignase activity was suppressed. It is of interest to note that A. niger was able to reduce the cellulose component at a higher rate than the T. viride used (Tables 7,9), considering that the latter mold has been reported to be quite effective in cellulose production through solid state fermentation (Chahal, 1985).

Both the polyphenolic and the caffeine content of the coffee pulp proved to be significantly ($P<0.01$) reduced by the three molds during the fermentation process. From the data obtained (Tables 4, 5 and 6) it can be appreciated that after 48 hours of fermentation A. niger was the most effective in lowering the total polyphenolic content of coffee pulp, followed by S. pulverulentum and T. viride; while in the case of caffeine S. pulverulentum proved to be the most effective followed bv T. viride and lastly by A. niger. In the case of the three organisms the fermentation time proved to have a significant ($P<0.01$) effect on the lowering of both the polyphenolic and caffeine content, expressed either on a product or on a substrate basis. The caffeine content of the products obtained with the different organisms and at the fermentation times studied, when expressed on a product basis, showed a significant ($P<0.05$) difference only after the 12 and 48 hour periods, while when expressed on a substrate basis a statistically significant ($P<0.01$) difference could be detected only at the 12 and 48 hour periods, while when expressed on a substrate basis a statistically significant ($P<0.01$) difference could be detected only at the 12 and 24 hour periods. This implies that A. niger and T. viride degrade caffeine at a significantly ($P<0.05$) higher rate than S. pulverulentum during the first 24 lhour of fermentation, however, during the last 24 hour of the process S. pulverulentum is capable of degrading the alkaloid at such a rate that it lyields the lowest caffeine figures. In the case of the poly8phenolic content of the products obtained at the different fermentation times studied, A. niger showed always statistically ($P<0.01$) lower values than T. viride and S. pulverulentum. The above was true when the results were expressed either on a substrate or on a product basis. This difference in polyphenolic content of the products obtained at the

different fermentation times studied with the different molds evaluated is presented in Figures 5 and 6.

A factorial analysis of the data obtained for polyphenols and caffeine indicated that both the mold used and the fermentation time had a significant ($P<0.01$) effect, when the results were expressed on a substrate and on a product basis. Further, the interaction mold x fermentation time proved also to be statistically significant ($P<0.01$) in every case (polyphenols and caffeine, expressed either on a substrate or product basis). This aspect is considered of relative relevance since it can be of future use when the data of the products to be obtained with a fixed inoculum will be collected and analyzed.

It should be mentioned also that the dry matter recovered after the different fermentation times evaluated using each of the 3 molds showed a significant ($P<0.01$) correlation with the polyphenolic and caffeine content, expressed either on a substrate ($r= 0.95$ and 0.87, respectively), or on a product basis ($r= 0.90$ and 0.68, respectively). Also, the pH value of the products obtained at the different fermentation times showed a significant ($P<0.01$) negative correlation with the same parameters, except with the caffeine when expressed on a product basis ($r= -0.76$, -0.73 and -0.59, for polyphenols expressed on a product basis, polyphenols expressed on a substrate basis, and caffeine expressed on a substrate basis, respectively). The above indicates that the lowering in polyphenolic and caffeine content of the coffee pulp attained through the process is related to the growing activity of the mold as reflected by the dry matter loss and pH increase.

From all the above discussion it can be concluded that from the three molds tested (A. niger, T. viride and S. pulverulentum), A. niger proved not only to have a better growth rate on coffee pulp under the conditions tested, but also it was able to reduced in a most efficient manner the polyphenols and the caffeine contained in the coffee pulp, components that have been identified as the most prominent antinutritional factors occurring in coffee pulp (Braham, 1979; Bressani, 1979).

B.2 Mixed Inocula

The growth obtained with the different mixed inocula studied, expressed as the increase in total amino acid content obtained in the substrate up to 72 hours after inoculation is presented in Figure 7. As can be appreciated the highest increase in total amino acids was obtained with the inoculum A. niger and S. pulverulentum. Such increase in total amino acids was significantly ($P<0.01$) higher than that obtained with the other mixed inocula evaluated. However, it should be noted that after 48 hours all of the products obtained with the mixed inocula tested had a significantly ($P<0.01$) lower total amino acid content than that obtained in the pulp inoculated with A. niger alone, after 48 hours (Figure 3 9.25% on a dry substrate basis).

The growth obtained with the different mixed inocula, when expressed as the increase in total amino acids (Figure 7), is significantly ($P<0.01$) correlated ($r= -0.79$) with the corresponding dry matter loss (Table 10). Here again, it is of interest to observe that after the first 48 hours of fermentation none of the mixed inocula tested was able to reduce the dry matter content of the substrate to the level reduced by A. niger alone (Table 4); fact which is again indicative of the better growth attained with this mold alone. Similarly, in all the mixed inocula tested

the pH tended to increase as the fermentation time progressed, however, after 48 hours the pH reached inall the mixed inocula evaluated (Table 11), never was as high as that obtained with A. niger alone (5.98, Table 4).

All the mixed inocula tested were able to significantly ($P<0.05$) reduce the polyphenolic, caffeine and crude fiber content of the pulp (Tables 12,13,14). However, again none of the mixed inocula tested were able kto reduce the stated antinutritional factors contain in coffee pulp to the levels which were attain using A. niger alone (Table 4, Figures 5,6), after only 48 hours of fermentation. It is of interest however, to notice that only through the use of the mixed inocula tested (except the mixture of the three molds studied) it was possible to significantly ($P<0.05$) reduce the lignin content of the material (Tables 15,16,17,18). Of particular interest is to note that only through the use of the combination of T. viride and A. niger it was possible to significantly ($P<0.05$) reduce the lignin content of the material within the first 48 hours of fermentation (Table 17). With the other two mixed inocula (A. niger and S. pulverulentum' T. viride and S. pulverulentum) a significant ($P<0.05$) reduction in lignin was attain but only after 60 hours of fermentation (Tables 15,16). The ability of this last two inocula containing S. pulverulentum to reduce the lignin content of coffee pulp until after 60 hours of fermentation seems to be explained by the fact that S. pulverulentum is able to produce ligninase and thus hydrolyze lignin when a limitation in nitrogen and carbohydrate sources occurs (Faison and Kirk, 1985). The fact that the most efficient reduction in lignin was obtained with the mixed inoculum A. niger and T. viride is of interest because none of them had been reported to breakdown this polymer (Chahal, 1985; Glenn et al, 1985; Jager et al, 1985; Raper and Thom,). All the

mixed inocula tested were able to significantly ($P<0.05$) reduce the cellulose; hemicellulose, acid and neutral detergent fiber (Tables 15,16,17,18). However, it is of interest to note that none of the mixed inocula tested reduced the above stated cell wall conponents of coffe pulp to the same levels lto which they were reduced by A. niger alone (Table 7), after 48 hours of fermentation.

From all the above it was decided to proceed to the determination of the minimum amount of external nutrients needed to be added for the process using only A. niger as independent inoculum, since as stated this mold proved to be lthe most efficient inoculum to grow on the pulp and to reduce its identified antinutritional factors (polyphenols, caffeine and cell wall components).

B.3 Type and amount of external nutrients needed to be added

The effect of the different concentrations of urea (0.0,1.5 and 2.5%), ammonium sulfate (0.0, 2.5 and 5.0%) and mono-potassium phosphate (0.0, 2.0 and 4.0%) tested, on the total amino acid content of the product obtained using A. niger as independent inoculum is presented in Table 19. As may be appreciate it, the different concentracions of the nutrients tested excerted an effect on the growth (expressed by the increase in total amino acids, on a product basis) of A.niger. The analysis of the results revealed that when 2.5% of urea, 2.0% of mono-potassium phosphate and 0.0% of ammonium sulfate were added a significantly ($P<0.05$) larger increase in total amino acids was obtained. In fact, such increase in the total amino acid content of the pulp was significantly ($P<0.05$) higher than the one obtained when using the standard nutrient concentration (urea 3.5%, ammonium sulfate 7.5%, mono-potassium

phosphate 5.0%) where the maximum concentration obtained was 11.38% (on a dry product basis).

The effect of the nutrient concentrations tested on the caffeine, polyphenolic and crude fiber content of the coffee pulp fermented for 48 hours with A. niger is presented on Tables 20, 21, 22; respectively. As expected, the concentration of nutrients which yielded the product with the higher total amino acid content (urea 2.5%, mono-potassium phosphate 2.0% and ammonium sulfate 0.0%, also yielded the product with a significantly ($P<0.05$) lower caffeine (Table 20), polyphenols (Table 21) and crude fiber (Table 22); thus emphasizing the relationship already mentioned previously between the decrease in concentration of these anti-nutritional factors and the rate of growth of the mold. Again, it should be noted that the values obtained for caffeine, polyphenols and crude fiber using the cited concentration of nutrients (Tables 20, 21, 22; expressed on a product basis) were lower than those obtained using the same mold (A. niger) and the standard original nutrient concentration (urea 3.5%, ammonium sulfate 7.5%, mono-potassium phosphate 5.0%). The difference obtained in polyphenols content proved to be statistically significant ($P<0.05$, Table 21).

The summary of the statistical analysis of the effects of the different concentrations of nutrients added on the levels attain of the different components cited on the final product is presented in Table 23. As stated previously the best combination found and recommended was that containing urea 2.5%, mono-potassium phosphate 2.0% and ammonium sulfate 0.0% since it promoted the best growth (Table 19) and the lower values of caffeine, polyphenols and crude fiber in the final product (Tables 20, 21, 22).

From previous data (Elias, 1979) as well as from the data obtained during the present project (Table 3), it is evident that coffee pulp is a material very rich in potassiu. Therefore, it was considered that the need of mono-potassium phosphate for the fermentation was most probably due to a need for phosphorus from the organism, rather than a need for potassiu. Further, considering that calcium phosphate is commercially available at relatively low price compared with the mono-potassium phosphate, which locally is available only at a reagent grade, it was considered that the latter salt could be substituted by the former with two advantages, namely to assure a relatively lower cost process and to obtain a fermented product without an added potassium content which could even have antinutritional effects. For the above reasons mono-potassium phosphate was substituted by calcium phosphate (commercial grade), in anequimolecular basis to assure an equal phosphate addition to the substrate. Fermentation trials using the stated substitution indicated that the product obtained had identical characteristics to those found previously using 2.0% of mono-potassium phosphate. Therefore, for further studies a 2.0% of dicalcium phosphate and a 2.5% of urea (also commercial grade) were added to the substrate as external nutrients.

C. Pilot Scale Fermentation Trials

Having established that the most efficient inoculum was an independent inoculum of A. niger and that the external nutrients to be added for maximum efficiency of the process were urea, commercial grade, at a 2.5% concentration and dicalcium phosphate, also commercial grade, at a 2.0% concentration, it was decideed to proceed with the pilot scale trials under the general fermenting conditions previously established (Peñaloza et al., 1985) and used in all the experiments during the present project

(temperature 35 C, moisture content 80%, pH 3.5 and aeration 8 lt./min. kg.).

C.1 Characteristics of the products obtained by the two technological alternatives studied

The chemical composition of the products obtained through the two fermenting technologies evaluated (jacketted kettle fermenting unit and tray fermentation system), are presented in Table 24. As the data reveals, the products obtained through the gray fermenting technology had a significantly ($P<0.05$) higher total amino acid content than the one obtained through the jacketted kettle fermenting unit after the same fermentation time (48 hours). The above data indicates then that a better growth of the organism was obtained through the former technology than through the latter alternative. The above phenomenum could be explained by the fact that the fermentation in the jacketted kettle unit was effected using continous agitation, and although the agitation speed used was slow (9.5 rpm), it is possible that this continous agitation exerted a continous disruption of the mycelium, thus preventing an homogeneous growth. Also, it is possible that the aeration velocity should had been increased, keeping a similar flow rate (8 lt./min.-kg.), to avoid a possible zonal effect on the aeration system. If a zonal effect occurred then the growth would be favored only in the zones where the aeration was effective, thus obtaining a product revealing a low total amino acids content. No attempt was carried out to correct the cited possible causes of a low growth efficiency in the jacketted kettle fermenting unit, because it was noted that the tray fermenting technology evaluated represented a more appropriate technology and of a most probable lower cost.

It is of interest to note here again that the product presenting the higher total amino acid content (indicative of a better growth rate of the organism), also presented the lower values of polyphenols, caffeine and crude fiber (Table 24). Also, it should be noted the effect that the height of the substrate (5 and 7.5 cm) excerted on the total amino acid content (or growth rate of the organism), and the values correlated with it, as crude fiber, caffeine and polyphenols. This effect could be explained by the lower aeration expected as the height of the substrate increases.

C.2 Economical Evaluation of the Fermentation Alternatives Considered

C.2.a Jacketted kettle fermenting unit

The fix costs calculated for the above cited alternative with a production capacity of 302,400 kg./gr are presented in Table 25. As may be seen, 21 fermenting units were estimated necessary to couple with the cited capacity.

The estimated processing costs of this alternative, for the cited capacity, are presented in Table 26. As may be seen, the product price with a 30% added value comes out to be US$0.28/kg. This product price is comparatively higher than the current local price of maize (US$0.22/kg), which would be the grain to be substituted in the chicken and/or swine rations. Also, considering that the product obtained through this fermentation alternative presented a total amino acid (or nearly true protein) content of 11.15% (Table 24), its costs per kg of protein would be US$2.51, figure which is considered high and it is higher than that of maize (9% protein, US$2.44/kg. of protein).

The estimated cost considered for the materials and reagents needed for the fermentation and the production of the spores are presented in Table 27. Such costs are included in the processing costs as utilities (additives for substrate, etc., Table 26).

C.2.b. Tray Fermentation System

The fix costs calculated for this alternative, assuming a similar production capacity than the previously cited jacketted kettle fermenting unit alternative (302,400 kg/yr),are presented in Table 28. As may be appreciated, the fix costs of the present alternative (US$63,300.00) are significantly lower than those of the jacketted kettle fermenting unit (US$163,200.00), for the same capacity (Table 25).

The processing costs calculated for this alternative are presented in Table 29. As can be appreciated, in this case the product price (with a 30% added value, US$0.169/kg), is significantly lower than that cited previously for the jacketted kettle unit (US$0.278/kg, Table 26) and than that current local price of maize (US$0.22/kg).

Also, considering that this product, when obtained using a height of substrate of 5 cm, presented a total amino acid figure of 16.22% (Table 24), the price of a kg of protein comes out to be US$1.04. This figure is considered more reasonable, and it is significantly lower than that cited for the product obtained in the jacketted kettle fermenting unit (US$2.51/kg of protein) and than that of locally produced maize (9% protein, US$2.44/kg of protein).

The cost figures used for the materials and reagents utilized in the production of spores and the preparation of the substrate

were the same as cited previously (Table 27). Similarly as in the jacketted kettle alternative these costs were included as utilities in Table 29.

From all the above it was concluded that the tray fermentation alternative was not only he most appropriate for developing countries as the Central American ones, but also it yielded the product with a higher total amino acid content and of a lower cost. Therefore,considering that this technology offered the best possibility for the future implementation of the solid state fermentation at a farm scale, it was decided to use it for the production of enough material to carry out the animal evaluations.

D. Animal Evaluations

D.1 Chickens

The weight gain data obtained in the feeding trial is presented in Tables 30 and 31. As may be observed, the groups fed the diets containing 5, 10 and 15% of the fermented product were statistically ($P<0.05$) similar in between and to the control diet and to the diets containing 5 and 10% of untreated coffee pulp. However, the diet containing 15% of the untreated coffee pulp proved to be statistically ($P<0.05$) different to those containing 5% coffee pulp (both fermented and unfermented). Thus, these results indicate already a favorable effect of the fermentation process since the diet containing 15% fermented pulp behaved statistically ($P<0.05$) similar to those added with 5% of the material while its similar containing 15% of the untreated pulp yielded a statistically ($P<0.05$) lower weight gain than the cited diets. It is of interest tonote that the diet that behaved worse was that added with the equivalent amount of caffeine contained in the diet added with 15% coffee pulp. These data indicate the anti-nutritional effect of this alkaloid.

It should be noted also, however, that when the same amount of caffeine in the ration (0.14%) was added together with the polyphenols (as tannic acid) and total ash contained in a ration with 15% pulp (0.79 and 2.10%, respectively, Table 1), the weight gain obtained was statistically ($P<0.05$) similar to that of the control diet and to those containing 5, 10 or 15% fermented pulp or 5 and 10% untreated pulp. These findings would then suggest a protective action of the cited two elements against the deletorious effects of caffeine alone. Possibly the ingestion of an excess of minerals (in the ash portion added) could accelerate the excretion process. Also, when the ash from the pulp is added to the control ration in a 2.10% level the weight gain remains statistically ($P<0.05$) similar to the control diet. This finding suggest that the ash fraction alone affects very little this parameter. The basic data from the analysis of variance carried out with the weight gain data is presented in Table 32.

The feed consumption data obtained is also included in Tables 30 and 31. As it may be seen, the groups fed the rations containing 5, 10 and 15% fermented pulp were statistically ($P<0.05$) similar to those fed the diets containing similar percentages of untreated pulp and to the control diet. It is of interest to note the low consumption figure presented by the diet containing 0.14% caffeine in contrast with those diets containing either the same amount of caffeine plus tannic acid (0.79%) and coffee pulp ashes (2.10%), or only the pulp ashes (2.10%, which showed a significantly ($P<0.05$) higher consumption figure (Table 31). The data from the analysis of variance of the feed consumption parameter is summarized in Table 33.

The diet containing 0.14% caffeine presented also the worse feed efficiency figure (2.30), statistically ($P<0.05$) similar to those diets containing 10% (2.29) and 15% (2.54) untreated (or unfermented) coffee pulp (Tables 30 and 31). These findings suggest then, that the caffeine at a 0.14% as well as the untreated coffee pulp at a 10 or 15% lower the weight gain of the animals by decreasing the nutritive value of the feed. The diets containing the fermented product either at a 5% or 10% or 15% presented a very good feed efficiency ratio (2.08, 2.21, and 2.20 respectively), statistically ($P<0.05$) similar to the control group (2.03) and the diet containing 5% untreated material (2.14). It should be noted that the diet containing 10% of the untreated pulp belonged to the three groups separated by the Tukey's test, due to its high variability. The beneficial effect of adding either tannic acid (0.79%) and coffee pulp ashes (2.10%) or only coffee pulp ashes (2.10%) 4, together with the 0.14% of caffeine is clearly marked on the feed efficiency data obtained (Table 31). The data obtained from the analysis of variance of the feed efficiency ratio is summarized in Table 34.

In conclussion, it may be said that the fermentation process improves the quality of coffee pulp allowing its inclussion in at least 15% in growing chicken's rations assuring a feed efficiency statistically ($P<0.05$) similar to the standard maize/soybean ration. The fact that the fermented pulp could be of a lower price than maize (Table 29), makes the whole alternative very atractive. In fact, it should be of great interest to examine the possibility of including the fermented product in higher percentages, so as to liberate more maize, which could be used for human consumption.

D.2 Swine

The feed consumption data for the swine feeding trial are presented in Table 35. As it can be appreciated the group of swine consuming the diet containing the fermented product presented the highest feed consumption figure, even higher than the control diet, while the feed containing the unfermented pulp presented the lowest feed consumption figure. These data suggest a beneficial effect of the fermentation process on the acceptability of the coffee pulp in the diet. Although the difference in the mean figures are relatively large (Table 35), no statistical significant difference could be detected, indicating the large variabiilty of the data obtained.

The weight gain data obtained in the three groups of swine is included in Table 35. As it may be seen, in this case the weight gained by the control group was statistically ($P<0.05$) similar to that obtained in the group receiving the fermented coffee pulp, and both were statistically ($P<0.05$) higher than the weight gain figure presented by the group receiving the diet containing the untreated coffee pulp. These results clearly reveal the beneficial effect of the fermentation process on the nutritional quality of the pulp. The summary of the analysis of variance carried out with regard to the weight gain data is presented in Table 36.

The mentioned improvement in the nutritional quality of coffee pulp obtained through the solid state fermentation of the material using A. niger and observed through the weight gain data, is further confirmed by the improvement in feed efficiency observed with the diet containing the fermented product (2.66) when compared to that containing the untreated pulp (2.88) (Table 35). Although the figures presented by both diets did not prove to be statistically ($P<0.05$) different, the

tendency to improvement is evident. Both diets however, proved to have a significantly ($P<0.05$) different feed efficiency figure than the control diet (2.11), through the Tukey's test (Table 35). The difference found in feed efficiency between the diet containing the fermented product and the control diet, could be explained partly at least by the relatively larger fiber content in the former (3.0% more) than in the latter diet. Such difference in fiber content is due to that fiber added by the fermented product when added at a 20% level. A summary of the analysis of variance carried out on the feed efficiency data obtained in the swine feeding trial is presented in Table 37.

In summary, from all the above we may conclude that the solid state fermentation process improves the nutritive quality of coffee pulp when intended for preparing swine rations. The above statement is supported by a better consumption, better weight gain of the animals and a better feed efficiency ratio of the diet containing the fermented product when compared with that containing the unfermented material at a similar level.

D.3 Necropsies' Main Findings

The main pathological findings obtained in the necropsy of both the chicken and swine groups are presented in Tables 38, 39 and 40. As it may be appreciated, in both cases the animals fed diets containing untreated (unfermented) coffee pulp presented hemorrhages in their gastrointestinal tract.

In the case of the chickens, the hemorrhages increased in intensity as the percentage of the untreated coffee pulp increased in the ration. Also, other symptoms of an irritation process (as thickening of

the stomach mucosa, ulceration of the small intestine mucosa) were observed as the percentage of untreated pulp increased in the ration. It is of interest to note also the tumefaction observed in the liver when the unfermented pulp was added at a 15% level. This finding would suggest a probable increase of the detoxifying activity of the liver as the percentage of coffee pulp is increased in the chicken ration. It is interest also to observe that the cited irritation process in the chicken's gastrointestinal tract observed in the groups fed the rations containing unfermented pulp, were also observed in those fed the raticns containing the 2.10% coffee pulp ashes or the 0.14% caffeine or both cited components in the mentioned concentrations plus tannic acid at a 0.79% level. These findings would suggest then that the cited constituents are partly responsible at least for the symtomatology observed in the gastrointestinal tract of the animals fed the rations containing the unfermented pulp. Further, the data also suggests that the fermentation process is modifying in some way the cited constituents at least, since the chickens fed the diets containing the fermented product at a 5 and 10% did not present any of the symtoms cited and that containing the 15% showed only hemorrhages of the lesser severity (petechial type). The data obtained supports in part the reports in the literature indicating that coffee consumption in humans tends to exacerbate existing ulcers (Stephenson et al., 1977). The possible irritating effects of coffee and/or caffeine in humans appear to be a function of dosage (IFT, 1987), statement which is in accordance with the findings of this study. The irritation effect of tannic aciu and other coffee pulp components (as caffeic and chlorogenic acid) have also been reported (Bressani, 1979).

In the case of the swine experiments, the necropsies revealed that only the group fed the unfermented pulp presented an irritation process in their gastrointestinal tract. As may be observed, in this case the animals presented congestive hemorrhages in their stomach and areas of their small and large intestine (Table 40).

IV. MAIN EQUIPMENT UNITS OBTAINED

Through the period involved in the present report the main equipment units obtained with the funds provided by this project included: 2 fermenting water baths equipped with aeration pumps and thermostats (Figure 1), where all the laboratory fermenting trials were carried out; 1 furnace, muffle and one crude fiber determination unit needed for different chemical analysis involved in the project; one power supply for the electrophoretical determinations of total amino acids; the agitation-aeration device built especifically for the jacketted vessel fermenting unit alternative evaluated at the pilot scale. Also, of great value as experimental tools were the adequation of the individual swine feeding units and the chicken feeding cages.

Besides the above major laboratory, pilot plant and animal feeding experimental equipment also valuable glassware, chemical reagents and auxiliary microbiological equipment was purchased through the funds provided by this grant-in-aid.

V. PROBLEMS ENCOUNTERED

The main problems encountered during the period of this report can be summarized as follows:

a. Coffee is a reasonal product and its availability is affected by climatic conditions. Due to the erratic behaviour of the rainy season

during the last two years, the planning of the study was significantly affected by the weather behaviour.

b. The local supply of reagents (as culture media, common chemicals as HCl, etc.) has been low, since it has been limited by the foreign exchange availability to the local suppliers. The purchasing of such items needs to be done through direct importation which in most cases is a lengthly procedure which takes between 4 to 6 months in most cases. Similarly, during the present year the local supply of soybean meal and other ingredients (as calcium phosphate) for the chicken and swine diets has been very scarce, and an order may take from 2 to 4 months to be supplied. The suppliers claim that the soybean meal availability is low because it has been affected by the drought suffered in the US during the present year.

c. During the last two weeks of the chicken study a prolonged rain provoked the infection of some of the animals with coccidiosis. Due to the above, the experiment planned for 8 weeks had to be analyzed only for the first 6 weeks, since in the last two a significant decrease in the performance of all the animals was obtained due to the cited infection.

VI. STUDENTS TRAINING AND PERSONNEL COVERED BY THE PROJECT

1. Students training

The development of the present project has allowed for the training of the following microbiology major B.S. students in the area of biotechnology:

a. Jorge Luis de León (Biologist).

b. Lisely de León (Chemical Engineer)

c. Jorge Leonel Rivera (Chemical Engineer)

d. Otto Raúl Lechuga (Vetenerian)

2. Personnel covered by the project

The present project has partially covered the salaries of the following INCAP personnel:

a. Dr. Mario R. Molina

b. Dr. Roberto Gómez-Brenes

c. Dr. Luiz G. Elías

d. Mr. Roberto Jarquín

e. Mr. Carlos Argueta

f. Ms. Patricia Aguilar

g. Ms. Victorina Campos

h. Ms. Albertina de Cifuentes

i. Mr. Marco A. Baten

j. Mr. Carlos E. Amézquita

k. Mr. Catalino Estrada

VII. PUBLICATIONS

The project has allow for the presentation of the results in a partial manner and a publication of the abstract of the presentation in different meetings:

a. M.R. Molina, P. Aguilar and R. Bressani. "Effect of pre-washing of coffee pulp on the utilization of caffeine and polyphenols by Aspergillus niger through solid state fermentation". Paper presented at the Symposium "Microbial Biomass Proteins (MBP): Nutritional, Safety and Economic Aspects". University of Waterloo, Waterloo, Ontario, Canada. June 18-20, 1985. (Abstract published).

b. M. R. Molina, R. Bressani, P. Aguilar, L. de León y M.A. Baten. "Evaluación de diversos tipos de mohos para el mejoramiento nutricional de pulpa de café por fermentación sólida". Paper presented at the "XXXII Reunión Anual del Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de Cultivos Alimenticios (PCCMCA)". San Salvador, El Salvador. March 17-22, 1986. (Abstract published).

c. M.R. Molina, P. Aguilar de Mendizábal y M.A. Baten. "Fermentación de pulpa de café en estado solido para alimentacion animal". Paper presented at the Third International Symposium "Utilización Integral de los subproductos del café". Guatemala, February 16-18, 1987. (Abstract published).

d. M.R. Molina, P. Aguilar de Mendizábal y M.A. Baten. "Fermentación de pulpa de café en estado sólido para alimentación animal". Paper presented at the "XXXIV Reunión Anual del Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de Cultivos y Animales (PCCMCA)". San José, Costa Rica. March 21-25, 1988. (Abstract published).

e. M.R. Molina. "Solid state fermentation as a means to improve the quality of coffee pulp as animal feed". Paper presented at the "PSTC Conference on Biotechnology for Health and Agriculture". Office of the Science Advisor, USAID, Washington, D.C. June 6-9, 1988. (Abstract published).

The following papers have already been accepted for presentation at the stated meetings:

a. M.R. Molina, J.L. Rivera y R. Bressani. "Desarrollo de alternativas para la fermentación sólida de la pulpa de café a nivel agroindustrial". Paper accepted for presentation at the "VI Seminario Latinoamericano de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Bogotá, Colombia. October, 11-14, 1988.

b. M.R. Molina, J.L. Rivera, R. Lechuga y R. Bressani. "Fermentación sólida: una alternativa para detoxificar y mejorar el valor nutritivo de la pulpa del café". "VIII Congreso Latinoamericano de Nutrición. Viña del Mar, Chile. Noviembre 7-10, 1988.

The following undergraduate thesis work have also been supported in part by this project:

a. J.L. Rivera Méndez. "Diseño y Evaluación del Proceso de Fermentación Sólida de la pulpa de café". Chem. Eng. Thesis. Faculty of Engineering, University of San Carlos, Guatemala. 1988. 51 p. (See attached copy).

b. O.R. Lechuga Valenzuela. "Evaluación biológica de la pulpa de café fermentada por Aspergillus niger en animales momogástricos (aves y cerdos). Vetenerian Thesis. Faculty of Veterinary Sciences, University of San Carlos, Guatemala. (Accepted in press).

VIII. COMPLIMENTARY WORK

The complimentary work stated in the attached document is being initiated before the completion of the project estimated for next December 1988.

IX. LITERATURE CITED

1. Braham, J.E. 1979. Coffee pulp in other species. p.51-54. In: J.E. Braham and R. Bressani. (Eds.). Coffee pulp: composition, technology and utilization. International Development Research Centre (IDRC). Ottawa, Ontario, Canada. (IDRC Publication 108 e).

2. Bressani, R. 1979. Antiphysiological factors in coffee pulp. p.83-88. In: J. E. Braham and R. Bressani (Eds.). Coffee pulp: composition, technology and utilization. International Development Research Centre (IDRC). Ottawa, Ontario, Canada. (IDRC Publication 108 e).

3. Chahal, D.S. Solid-state fermentation with Trichoderma reesei for cellulase production. Appl. Environ. Microbiol. 49:205-210. 1985.

4. Elias, L.G. Chemical composition of coffee-berry by-products. p. 11-16. In: J.E. Braham and R. Bressani (Eds.). Coffee pulp: composition, technology and utilization. International Development Research Centre (IDRC), Ottawa, Ontario, Canada. (IDRC Publication 108 e).

5. Faison, B.D. and Kirk, T.K. Factors involved in the regulation of a ligninase activity in Phanerochaete chrysosporium. Appl. Environ. Microbiol. 49:299-304. 1985.

6. George, U. and Ghose, T.K. Bioconversion of rice straw into improved fodder for cattle. In: The Use of Organic Residues in Rural Communities, Shacklady, C.A. (Ed.). The United Nations University, Tokyo, Japan. 1983. p. 32-39.

7. Glenn, M.; Ghosh, A. and Ghosh, B.K. Subcellular fractionation of a hypercellulolytic mutant, Trichoderma reesei Rut-C30: localization of endoglucanase in microsomal fraction. Appl. Environ. Microbiol. 50:1137-1143. 1985.

8. Institute of Food Technologists (IFT). Evaluation of caffeine safety. Food Technol. 41(6):105-113. 1987.

9. Jager, A.; Croan, S. and Kirk, T.K. Production of ligninases and degradation of lignin in agitated submerged cultures of Phanerochaete chyrosporium. Appl. Environ. Microbiol. 50:1274-1278. 1985.

10. Raimbault, M. "Fermentation en Milieu Solide". Travaux et documents de L'Orstom No.127. Orstom, Paris, 1981. p. 250-267.

11. Raper, K.B. and Fennell, D.I. "The genus Aspergillus. Chapter 16. Aspergillus niger Group. p. 293-344. The Williams & Wilkins Company. Baltimore, 1965.

12. Senez, J.C. Solid state fermentation of starchy substrates. In: United Nations University: Bioconversion of organic residues for rural communities". Papers of the Art of Bioconversion Residues for Rural Communities". Guatemala City. Institute of Nutrition of Central America and Panama (INCAP), 13-15 Nov., 1979. Printed by the United Nations University, Tokyo, Japan. Food Nutr. Bull. Suppl. 2. November 1979. p. 127-131.

13. Senez, J.C.; Raimbault, M. and Deschamps, F. Enriquecimiento proteico de sustratos amilaceos para piensos por fermentacion en solido. Rev. Mundial Zootecnia (FAO), No. 35, p.36-39, 1980.

14. Snedecor, G.W. and Cochran, W.G. "Statistical Methods". 6th. Ed. The Iowa State University Press. Ames, Iowa. 1967. p.258-260, 238-298, 339-380.

15. Stephenson, F.E. Physiologic and psychotropic effects of caffeine in man. J. Am. Diet. Assn. 71:240- . 1977.

16. von Hofsten, B. Cultivation of a thermotolerant Basidiomycete on various carbohydrates. In: "Food from Waste". Birch, G.G.; Parker, K.J. and Worgan, J.T. (Eds.). Applied Science Publishers. London, England. 1976. p. 156-165.

TABLE 1

PERCENT FORMULATION OF THE EXPERIMENTAL DIETS USED IN THE CHICKEN FEEDING TRIALS
(Calculated 21% crude protein)

Ingredients	Diet									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Soybean meal	35.00	35.00	35.00	35.00	35.00	35.00	35.00	35.00	35.00	35.00
Dicalcium phosphate	2.10	2.10	2.10	2.10	2.10	2.10	2.10	2.10	2.10	2.10
Calcium carbonate	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
Iodized salt	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45
Premix-100 Pfizer	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55
DL-Methionine	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Cottonseed oil	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Yellow corn	55.30	50.30	45.30	40.30	50.30	45.30	40.30	53.20	55.16	52.27
Coffee pulp:										
a. Non fermented	--	5.00	10.00	15.00	--	--	--	--	--	--
b. Fermented	--	--	--	--	5.00	10.00	15.00	--	--	--
Ash from 15 lb pulp	--	--	--	--	--	--	--	2.10	--	2.10
Caffeine	--	--	--	--	--	--	--	--	0.14	0.14
Tannic acid	--	--	--	--	--	--	--	--	--	0.79
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

Incap 88-106

TABLE 2

PERCENT FORMULATION OF THE EXPERIMENTAL DIETS USED IN THE SWINE FEEDING TRIALS
(Calculated 21°/o crude protein)

Ingredients	Diet 1	Diet 2	Diet 3
Soybean meal	35.00	35.00	35.00
Dicalcium phosphate	2.10	2.10	2.10
Calcium carbonate	1.50	1.50	1.50
Iodized salt	0.45	0.45	0.45
Premix-100 Pfizer	0.83	0.83	0.83
DL-Metionina	0.10	0.10	0.10
Cottonseed oil	5.00	5.00	5.00
Yellow corn	55.02	35.02	35.02
Coffee pulp:			
a. Non fermented	— —	20.00	— —
b. Fermented	— —	— —	20.00
Total	100.00	100.00	100.00

Incap 88-107

TABLE 3

PERCENT COMPOSITION OF THE ORIGINAL COFFEE PULP*

Component	Concentration (%)
Ether extract	2.47
Crude fiber	23.79
Total nitrogen	1.83
Total amino acids	5.37
Ash	5.97
Potassium	1.48
Copper (ppm)	5.87
Neutral detergent fiber**	45.48
Acid detergent fiber**	44.24
Cellulose**	25.31
Hemicellulose**	3.23
Lignin**	21.54
Caffeine	0.98
Polyphenols	5.34

* Average values obtained in approximately 30 samples.

** Cell wall components.

TABLE 4

DRY MATTER RECOVERED, pH, POLYPHENOLIC AND CAFFEINE CONTENT OF COFFEE PULP SUBJECTED TO SOLID STATE FERMENTATION FOR DIFFERENT TIMES USING *Aspergillus niger*

Fermentation time (h)	Dry matter recovered (%)	pH	Polyphenols (%, dry basis)	Caffeine (%, dry basis)
0	100	3.5	5.38 ± 0.12*	0.94 ± 0.02
12	88.89 ± 0.16	3.54 ± 0.08	4.85 ± 0.25 (4.32 ± 0.22)**	0.83 ± 0.04 (0.74 ± 0.03)
24	76.20 ± 0.27	3.98 ± 0.12	3.07 ± 0.55 (2.33 ± 0.42)	0.86 ± 0.04 (0.66 ± 0.03)
36	74.88 ± 0.23	5.54 ± 0.24	2.68 ± 0.13 (2.01 ± 0.10)	0.76 ± 0.10 (0.57 ± 0.07)
48	71.80 ± 0.17	5.98 ± 0.12	2.10 ± 0.25 (1.51 ± 0.18)	0.73 ± 0.07 (0.53 ± 0.05)

* Standard deviation of the mean.

** Values in parenthesis represent concentrations on a substrate basis.

TABLE 5

DRY MATTER RECOVERED, pH, POLYPHENOLIC AND CAFFEINE CONTENT OF COFFEE PULP SUBJECTED TO SOLID STATE FERMENTATION FOR DIFFERENT TIMES USING *Sporotrichum pulverulentum*

Fermentation time (h)	Dry matter recovered (%)	pH	Polyphenols (%, dry basis)	Caffeine (%, dry basis)
0	100	3.50	5.38 ± 0.12*	0.94 ± 0.02
12	91.62 ± 0.19	3.46 ± 0.05	5.33 ± 0.24 (4.89 ± 0.22)**	0.87 ± 0.03 (0.80 ± 0.02)
24	90.08 ± 0.23	3.44 ± 0.08	4.08 ± 0.07 (3.57 ± 0.06)	0.86 ± 0.03 (0.78 ± 0.02)
36	87.38 ± 0.17	3.82 ± 0.24	3.37 ± 0.16 (3.05 ± 0.15)	0.64 ± 0.07 (0.54 ± 0.03)
48	79.00 ± 0.19	3.96 ± 0.24	3.01 ± 0.32 (2.38 ± 0.25)	0.64 ± 0.03 (0.51 ± 0.02)

* Standard deviation of the mean.

TABLE 6

DRY MATTER RECOVERED, pH, POLYPHENOLIC AND CAFFEINE CONTENT OF COFFEE PULP SUBJECTED TO SOLID STATE FERMENTATION FOR DIFFERENT TIMES USING *Trichoderma viride*

Fermentation time (h)	Dry matter recovered (%)	pH	Polyphenols (%, dry basis)	Caffeine (%, dry basis)
0	100	3.50	5.38 ± 0.12*	0.94 ± 0.02
12	87.85 ± 0.17	3.54 ± 0.05	5.34 ± 0.20 (4.69 ± 0.18)**	0.81 ± 0.03 (0.72 ± 0.03)
24	83.15 ± 0.22	3.74 ± 0.05	3.83 ± 0.27 (3.18 ± 0.23)	0.82 ± 0.05 (0.69 ± 0.04)
36	83.00 ± 0.16	3.90 ± 0.13	3.15 ± 0.33 (2.63 ± 0.27)	0.65 ± 0.05 (0.56 ± 0.03)
48	79.71 ± 0.14	4.16 ± 0.10	3.22 ± 0.50 (2.58 ± 0.39)	0.66 ± 0.03 (0.53 ± 0.02)

* Standard deviation of the mean.

** Values in parenthesis represent concentration on a substrate basis.

TABLE 7

CHANGES IN THE CELL WALL CONSTITUENTS OF COFFEE PULP SUBJECTED TO SOLID STATE FERMENTATION USING *Aspergillus niger**
(Dry basis)

Fermentation Time	CELL WALL CONSTITUENTS (%)				
	Neutral Detergent Fiber	Acid Detergent Fiber	Cellulose	Hemicellulose	Lignin
0	56.54 ± 0.24**	52.24 ± 0.55	35.21 ± 0.52	3.24 ± 0.31	16.39 ± 0.42
12	45.69 ± 0.46 (51.40 ± 0.52)***	44.01 ± 0.50 (49.40 ± 0.34)	29.06 ± 0.29 (32.75 ± 0.20)	1.78 ± 0.67 (2.00 ± 0.76)	15.45 ± 0.25 (17.52 ± 0.23)
24	32.28 ± 0.41 (48.76 ± 0.62)	32.03 ± 0.36 (48.38 ± 0.55)	19.88 ± 0.18 (30.02 ± 0.27)	1.55 ± 0.13 (1.98 ± 0.20)	11.70 ± 0.29 (17.68 ± 0.44)
36	30.88 ± 0.21 (47.60 ± 0.34)	29.52 ± 0.28 (45.49 ± 0.43)	15.97 ± 0.23 (24.62 ± 0.35)	1.37 ± 0.44 (2.11 ± 0.68)	13.33 ± 0.22 (20.55 ± 0.35)
	28.13 ± 0.22 (45.52 ± 0.35)	26.90 ± 0.25 (43.53 ± 0.41)	13.69 ± 0.40 (22.15 ± 0.65)	1.23 ± 0.30 (1.99 ± 0.49)	15.37 ± 0.61 (24.47 ± 0.36)

* Results on a substrate basis.
** Standard deviation of the mean.
*** The figures in parenthesis represent concentrations on a product basis.

TABLE 8

CHANGES IN THE CELL WALL CONSTITUENTS OF COFFEE PULP SUBJECTED TO SOLID STATE FERMENTATION USING (Sporotrichum pulverulentum)*
(Dry basis)

Fermentation Time	CELL WALL CONSTITUENTS (%)				
	Neutral Detergent Fiber	Acid Detergent Fiber	Cellulose	Hemicellulose	Lignin
0	55.54 ± 0.24**	52.24 ± 0.55	35.21 ± 0.56	3.24 ± 0.31	16.39 ± 0.42
12	45.21 ± 3.38 (50.97 ± 0.36)***	46.22 ± 0.28 (50.45 ± 0.31)	30.92 ± 0.12 (33.63 ± 0.31)	0.48 ± 0.08 (0.53 ± 0.09)	15.46 ± 0.18 (16.88 ± 0.19)
24	43.34 ± 0.38 (48.17 ± 0.45)	42.89 ± 0.56 (47.61 ± 0.62)	28.15 ± 1.34 (31.25 ± 1.48)	0.45 ± 0.24 (0.50 ± 0.27)	15.56 ± 0.29 (17.36 ± 0.31)
36	42.61 ± 0.34 (48.76 ± 0.39)	41.51 ± 1.42 (46.78 ± 0.35)	22.82 ± 0.26 (26.12 ± 0.29)	1.74 ± 0.58 (1.99 ± 0.66)	16.92 ± 0.20 (19.36 ± 0.22)
48	38.08 ± 0.32 (48.20 ± 0.41)	35.90 ± 0.58 (45.45 ± 0.74)	18.86 ± 0.44 (23.88 ± 0.56)	2.18 ± 0.68 (2.76 ± 0.86)	16.96 ± 0.25 (21.46 ± 0.31)

* Results on a substrate basis.
** Standard deviation of the mean.
*** The figures in parenthesis represent concentrations on a product basis.

TABLE 9

CHANGES IN THE CELL WALL CONSTITUENTS OF COFFEE PULP SUBJECTED TO SOLID STATE FERMENTATION USING *Trichoderma viride**
(Dry basis)

Fermentation Time	CELL WALL CONSTITUENTS (%)				
	Neutral Detergent Fiber	Acid Detergent Fiber	Cellulose	Hemicellulose	Lignin
0	55.54 ± 0.24**	52.24 ± 0.55	35.21 ± 0.56	3.24 ± 0.31	16.39 ± 0.42
12	45.77 ± 0.55 (52.09 ± 0.63)***	44.51 ± 0.29 (50.58 ± 0.37)	29.65 ± 1.05 (33.76 ± 1.19)	1.38 ± 0.53 (1.57 ± 0.49)	15.33 ± 0.46 (17.45 ± 0.52)
24	41.45 ± 0.32 (49.95 ± 0.25)	41.24 ± 0.18 (49.59 ± 0.21)	23.77 ± 0.21 (28.58 ± 0.25)	0.29 ± 0.15 (0.35 ± 0.18)	15.35 ± 0.34 (18.46 ± 0.36)
36	40.89 ± 0.27 (49.15 ± 0.27)	38.68 ± 0.30 (46.60 ± 0.36)	20.39 ± 0.62 (24.71 ± 0.75)	2.21 ± 0.37 (2.67 ± 0.44)	16.12 ± 0.31 (19.42 ± 0.38)
48	38.91 ± 0.28 (48.81 ± 0.48)	37.13 ± 0.34 (46.58 ± 0.43)	19.12 ± 0.29 (23.99 ± 0.37)	1.78 ± 0.39 (2.23 ± 0.49)	14.75 ± 0.21 (18.51 ± 0.26)

* Results on a substrate basis.
** Standard deviation of the mean.
*** The figures in parenthesis represent concentrations on a product basis.

TABLE 10

PERCENT DRY MATTER RECOVERED IN COFFEE PULP SUBJECTED TO SOLID STATE FERMENTATION USING MIXED INOCULA

Fermentation Time (h)	MIXED INOCULA USED			
	T. viride and *S. pulverulentum*	*A. niger* and *T. viride*	*A. niger* and *S. pulverulentum*	*A. niger*, *T. viride* and *S. pulverulentum*
0	100	100	100	100
24	87.08 ± 1.07*	87.33 ± 0.28	85.30 ± 1.60	83.23 ± 1.11
36	86.46 ± 0.99	81.88 ± 1.43	80.09 ± 1.88	78.09 ± 1.48
48	84.93 ± 0.31	77.43 ± 1.29	77.05 ± 0.63	76.83 ± 1.07
60	81.08 ± 0.84	75.92 ± 1.46	71.86 ± 0.93	73.97 ± 2.24
72	78.62 ± 1.15	73.05 ± 2.75	66.64 ± 0.81	68.98 ± 2.40

* Standard deviation of the mean.

TABLE 11

VALUES OF pH OBTAINED IN COFFEE PULP SUBJECTED TO SOLID STATE FERMENTATION USING MIXED INOCULA

Fermentation Time (h)	MIXED INOCULA USED			
	T. viride and *S. pulverulentum*	*A. niger* and *T. viride*	*A. niger* and *S. pulverulentum*	*A. niger*, *T. viride* and *S. pulverulentum*
0	3.50	3.50	3.50	3.50
24	3.60 ± 0.00*	3.56 ± 0.09	3.66 ± 0.05	3.52 ± 0.04
36	3.96 ± 0.06	3.92 ± 0.11	3.90 ± 0.14	3.84 ± 0.17
48	3.78 ± 0.08	4.84 ± 0.05	4.60 ± 0.07	4.40 ± 0.16
60	4.22 ± 0.26	5.12 ± 0.20	4.98 ± 0.04	4.96 ± 0.09
72	4.04 ± 0.05	5.02 ± 0.19	5.54 ± 0.05	5.50 ± 0.25

* Standard deviation of the mean.

TABLE 12

PERCENT OF POLYPHENOLS IN COFFEE PULP SUBJECTED TO SOLID STATE FERMENTATION USING MIXED INOCULA*

Fermentation Time (h)	MIXED INOCULA USED			
	T. viride and *S. pulverulentum*	*A. niger* and *T. viride*	*A. niger* and *S. pulverulentum*	*A. niger*, *T. viride* and *S. pulverulentum*
24	4.85 ± 0.14**	4.73 ± 0.03	4.35 ± 0.05	4.43 ± 0.10
36	4.57 ± 0.03	3.32 ± 0.07	3.18 ± 0.08	3.11 ± 0.17
48	3.80 ± 0.11	2.51 ± 0.01	2.19 ± 0.11	1.98 ± 0.15
60	2.28 ± 0.13	2.18 ± 0.01	1.83 ± 0.12	2.33 ± 0.11
72	2.42 ± 0.08	2.87 ± 0.04	2.05 ± 0.13	2.61 ± 0.13

* Results expressed as catechin, on a dry basis and on a substrate basis. The polyphenols content of the original dried pulp was 5.38 ± 0.12, expressed as catechin.

** Standard deviation of the mean.

TABLE 13

PERCENT OF CAFFEINE IN COFFEE PULP SUBJECTED TO SOLID STATE FERMENTATION USING MIXED INOCULA*

Fermentation Time (h)	MIXED INOCULA USED			
	T. viride and *S. pulverulentum*	*A. niger* and *T. viride*	*A. niger* and *S. pulverulentum*	*A. niger*, *T. viride* and *S. pulverulentum*
24	0.84 ± 0.06**	0.78 ± 0.07	0.75 ± 0.03	0.73 ± 0.06
36	0.78 ± 0.08	0.66 ± 0.05	0.63 ± 0.08	0.66 ± 0.04
48	0.76 ± 0.01	0.62 ± 0.03	0.56 ± 0.05	0.61 ± 0.04
60	0.57 ± 0.08	0.56 ± 0.05	0.52 ± 0.05	0.58 ± 0.02
72	0.77 ± 0.05	0.59 ± 0.06	0.63 ± 0.07	0.60 ± 0.07

* Results expressed on a dry basis and on a substrate basis. The caffeine content of the original dried pulp was 0.94 ± 0.02.

** Standard deviation of the mean.

TABLE 14

PERCENT OF CRUDE FIBER IN COFFEE PULP SUBJECTED TO SOLID STATE FERMENTATION USING MIXED INOCULA*

Fermentation Time (h)	MIXED INOCULA USED			
	T. viride and *S. pulverulentum*	*A. niger* and *T. viride*	*A. niger* and *S. pulverulentum*	*A. niger*, *T. viride* and *S. pulverulentum*
24	17.06 ± 0.37**	14.89 ± 0.86	17.24 ± 0.37	15.42 ± 0.51
36	14.15 ± 0.49	14.98 ± 0.34	18.07 ± 1.29	16.37 ± 0.12
48	14.67 ± 0.26	15.34 ± 0.56	18.45 ± 0.57	16.91 ± 0.33
60	14.81 ± 0.52	7.62 ± 0.41	14.91 ± 0.44	9.61 ± 1.12
72	12.89 ± 1.48	8.14 ± 0.33	10.33 ± 0.61	9.71 ± 0.59

* Results expressed on a dry basis and on a substrate basis. The crude fiber content of the original dried pulp was 22.54 ± 0.22.

** Standard deviation of the mean.

TABLE 15

PERCENTAGE OF CELL WALL CONSTITUENTS IN COFFEE PULP SUBJECTED TO SOLID STATE FERMENTATION USING THE MIXED INOCULUM *T. viride* AND *S. pulverulentum*

Fermentation Time (h)	CELL WALL CONSTITUENTS*				
	Neutral Detergent Fiber	Acid Detergent Fiber	Cellulose	Hemicellulose	Lignin
0	45.48 ± 0.29**	44.24 ± 0.55	25.31 ± 1.30	3.23 ± 0.21	21.54 ± 0.21
24	39.97 ± 0.58	42.16 ± 0.19	19.85 ± 0.56	1.21 ± 0.12	20.07 ± 0.48
36	36.24 ± 1.12	41.28 ± 0.59	20.13 ± 0.32	0.75 ± 0.48	20.63 ± 0.22
48	34.09 ± 0.80	39.68 ± 0.30	19.81 ± 0.14	N.D.***	20.01 ± 0.40
60	36.82 ± 1.26	39.40 ± 0.26	19.03 ± 0.28	N.D.	19.56 ± 0.44
72	31.46 ± 1.54	33.85 ± 0.51	13.01 ± 0.40	N.D.	13.36 ± 0.10

* Data expressed on a dry, product basis.

** Standard deviation of the mean.

*** N.D.= no detectable.

TABLE 16

PERCENTAGE OF CELL WALL CONSTITUENTS IN COFFEE PULP SUBJECTED TO SOLID STATE FERMENTATION USING THE MIXED INOCULUM *A. niger* AND *S. pulverulentum*

Fermentation Time (h)	CELL WALL CONSTITUENTS*				
	Neutral Detergent Fiber	Acid Detergent Fiber	Cellulose	Hemicellulose	Lignin
0	45.48 ± 0.29**	44.24 ± 0.55	25.31 ± 1.30	3.23 ± 0.21	21.54 ± 0.21
24	42.01 ± 2.38	41.31 ± 0.28	18.39 ± 0.18	1.42 ± 0.09	22.26 ± 0.57
36	41.75 ± 1.61	39.71 ± 1.04	19.82 ± 0.38	0.91 ± 0.11	20.71 ± 0.54
48	41.07 ± 1.17	37.35 ± 0.14	18.27 ± 0.48	0.51 ± 0.13	19.04 ± 1.00
60	38.94 ± 1.21	30.84 ± 0.49	13.71 ± 0.53	N.D.***	12.40 ± 1.12
72	38.38 ± 0.82	27.10 ± 1.16	10.18 ± 0.64	N.D.	10.63 ± 0.47

* Data expressed on a dry, product, basis.

** Standard deviation of the mean.

*** N.D.= no detectable.

TABLE 17

PERCENTAGE OF CELL WALL CONSTITUENTS IN COFFEE PULP SUBJECTED TO SOLID STATE FERMENTATION USING THE MIXED INOCULUM *A. niger* AND *T. viride*

Fermentation Time (h)	CELL WALL CONSTITUENTS*				
	Neutral Detergent Fiber	Acid Detergent Fiber	Cellulose	Hemicellulose	Lignin
0	45.48 ± 0.29**	44.24 ± 0.55	25.31 ± 1.30	3.23 ± 0.21	21.54 ± 0.21
24	39.13 ± 1.05	41.48 ± 0.19	22.76 ± 0.38	1.01 ± 0.13	22.78 ± 0.48
36	36.33 ± 1.48	36.13 ± 1.00	19.34 ± 0.23	0.53 ± 0.08	19.32 ± 0.17
48	36.02 ± 1.08	34.18 ± 0.08	18.45 ± 0.61	N.D.***	18.23 ± 1.04
60	26.42 ± 0.64	32.86 ± 0.07	15.09 ± 0.29	N.D.	15.12 ± 0.33
72	26.60 ± 0.68	28.98 ± 1.04	13.64 ± 0.69	N.D.	12.26 ± 1.06

* Data expressed on a dry, product, basis.

** Standard deviation of the mean.

*** N.D.= no detectable.

TABLE 18

PERCENTAGE OF CELL WALL CONSTITUENTS IN COFFEE PULP SUBJECTED TO SOLID STATE FERMENTATION USING THE MIXED INOCULUM *A. niger*, *T. viride* AND *S. pulverulentum*

Fermentation Time (h)	CELL WALL CONSTITUENTS*				
	Neutral Detergent Fiber	Acid Detergent Fiber	Cellulose	Hemicellulose	Lignin
0	45.48 ± 0.29**	44.24 ± 0.55	25.31 ± 1.30	3.23 ± 0.21	21.54 ± 0.21
24	38.41 ± 0.69	36.59 ± 0.28	22.56 ± 1.57	2.01 ± 0.19	15.68 ± 0.62
36	38.36 ± 0.64	32.78 ± 0.78	16.40 ± 0.50	1.13 ± 0.14	15.99 ± 0.85
48	36.61 ± 1.16	36.92 ± 0.87	17.43 ± 0.23	0.43 ± 0.05	19.09 ± 0.60
60	27.55 ± 1.08	30.04 ± 1.26	11.01 ± 1.07	N.D.***	19.45 ± 0.42
72	25.78 ± 1.76	29.49 ± 1.13	9.86 ± 0.40	N.D.***	18.98 ± 0.35

* Data expressed on a dry, product, basis.

** Standard deviation of the mean.

*** N.D.= no detectable.

TABLE 19

EFFECT OF THE CONCENTRATION OF ADDED NUTRIENTS ON THE TOTAL AMINO ACID CONTENT OF COFFEE PULP FERMENTED FOR 48 HOURS AT 35°C USING A. niger*
(°/o of total amino acids)

Added concentration (°/o)**		Urea added (°/o)**		
Monopotassium phosphate	Ammonium sulfate	0.0	1.50	2.50
0.00	0.00	9.99	9.47	7.31
	2.50	8.54	8.20	7.87
	5.00	7.99	7.29	8.48
2.00	0.00	8.34	10.64	13.46
	2.50	8.82	9.32	10.12
	5.00	8.50	8.64	9.15
4.00	0.00	8.07	8.30	9.17
	2.50	8.87	8.60	9.93
	5.00	8.38	9.43	10.35

* With the standard concentrations added, monopotassium phosphate 5.0, urea 3.5 and ammonium sulfate 7.5°/o, a total of 11.38°/o of total amino acids was obtained.

** Percentage on dry coffee pulp basis.

Incap 88-98

TABLE 20

EFFECT OF THE CONCENTRATION OF ADDED NUTRIENTS ON THE CAFFEINE CONTENT OF COFFEE PULP FERMENTED FOR 48 HOURS AT 35°C USING A. niger*
(°/o of caffeine)

Added concentration (°/o)**		Urea added (°/o)**		
Monopotassium phosphate	Ammonium sulfate	0.00	1.50	2.50
0.00	0.00	0.90	0.83	1.01
	2.50	0.73	0.85	0.90
	5.00	0.77	0.86	1.05
2.00	0.00	0.83	0.78	0.64
	2.50	0.90	0.81	0.77
	5.00	0.80	0.84	0.79
4.00	0.00	0.90	0.92	0.76
	2.50	0.86	0.83	0.81
	5.00	0.71	0.81	0.84

* With the standard concentrations of monopotassium phosphate, ammonium sulfate and urea added (5.0, 7.5 and 3.5°/o, respectively), a caffeine concentration of 0.69°/o was obtained.

** Percentage on a dry coffee pulp basis.

Incap 88-100

TABLE 21

EFFECT OF THE CONCENTRATION OF ADDED NUTRIENTS ON THE POLYPHENOL CONTENT OF COFFEE PULP FERMENTED FOR 48 HOURS AT 35°C USING A. niger*
(°/o of polyphenols)

Added concentration (°/o)**		Urea added (°/o)**		
Monopotassim phosphate	Ammonium sulfate	0.00	1.50	2.50
0.00	0.00	4.11	3.65	2.91
	2.50	3.11	2.64	3.07
	5.00	3.11	2.94	4.24
2.00	0.00	2.54	2.49	1.95
	2.50	3.15	2.48	2.01
	5.00	4.95	3.43	2.23
4.00	0.00	2.67	2.59	3.43
	2.50	3.47	2.63	3.41
	5.00	3.39	3.04	3.70

* With the standard concentrations added, monopotassium phosphate 5.0, urea 3.5 and ammonium sulfate 7.5°/o, a polyphenols concentration of 3.39 was obtained.

** Percentage on dry coffee pulp basis.

Incap 88-99

TABLE 22

EFFECT OF THE CONCENTRATION OF ADDED NUTRIENTS ON THE CRUDE FIBER CONTENT OF COFFEE PULP FERMENTED FOR 48 HOURS AT 35°C USING A. niger*
(% of crude fiber)

Added concentration (%)**		Urea added (%)**		
Monopotassium phosphate	Ammonium sulfate	0.0	1.50	2.50
0.00	0.00	22.76	18.50	19.38
	2.50	21.75	18.44	18.24
	5.00	19.91	17.55	19.39
2.00	0.00	21.68	16.10	14.31
	2.50	20.75	16.04	16.20
	5.00	17.83	15.93	15.18
2.50	0.00	21.81	17.88	16.80
	2.50	22.16	18.31	16.90
	5.00	20.80	17.42	17.19

* With the standard concentrations of monopotassium phosphate, ammonium sulfate and urea added (5,0, 7.5 and 3.5%, respectively), a value of 14.78% crude fiber was obtained.

** Percentage on a dry coffee pulp basis.

Incap 88-101

TABLE 23

STATISTICAL ANALYSIS OF THE EFFECT OF THE CONCENTRATION OF ADDED NUTRIENTS ON DIFFERENT CONSTITUENTS OF THE FERMENTED COFFEE PULP

Source of variation	Parameter studied			
	Caffeine	Crude fiber	Polyphenols	Total amino acids
Ammonium sulfate (S)	N.S.*	+**	N.S.	N.S.
Urea (U)	N.S.	+	+	+
Monopotassium phosphate (P)	N.S.	+	N.S.	+
S – U	N.S.	N.S.	+	N.S.
S – P	N.S.	N.S.	N.S.	+
U – P	+	N.S.	+	N.S.
S – U – P	N.S.	N.S.	+	+

* N.S. = Not statistically significant.
** T = Statistically significant ($P > 0.05$).

Incap 88-102

TABLE 24

PERCENT COMPOSITION OF COFFEE PULP SUBJECTED TO SOLID STATE FERMENTATION THROUGH THE TRAY FERMENTATION ALTERNATIVE USING *Aspergillus niger**

Component	Height of substrate (cm)	
	5	7.5
Moisture	10.00	10.00
Ether extract	1.72	2.10
Crude fiber	14.65	16.38
Ash	11.56	11.63
Nitrogen	16.45	15.26
Total amino acids	16.22	13.12
Caffeine	0.65	0.74
Polyphenols	1.39	1.67

* At 35°C and 80% relative humidity, with the addition of 2.5 g of urea and 2.0 g of dicalcium phosphate per 100 g of dry pulp.

Incap 88-96

TABLE 25

FIX COSTS FOR COFFEE PULP PROCESSING THROUGH SOLID STATE FERMENTATION USING THE JACKETTED KETTLE FERMENTING UNIT ALTERNATIVE

Equipment (installed):	
21 Fermenting units	$ 126,000.00
1 Hammer mill, 3 hp engine	4,000.00
1 Rotatory dryer, 3 hp engine	1,600.00
1 Thermostat (0 to 100°C)	600.00
1 Air heater, 1 hp	700.00
1 Air flow meter, 150 m^3/min	80.00
1 Water flow meter, 20 lts/min	120.00
1 Compressor, 3 hp engine	1,600.00
Laboratory equipment	1,200.00
Office equipment	800.00
Auxiliary equipment	1,500.00
Total equipment costs	$ 138,200.00
Building costs	8,000.00
Land	2,000.00
External connections	3,000.00
Engineering costs	12,000.00
Total fix costs	$ 163,200.00

Incap 88-207

TABLE 26

PROCESSING COSTS OF COFFEE PULP THROUGH SOLID STATE FERMENTATION USING THE JACKETTED KETTLE ALTERNATIVE

Plant costs $163,000.00 Production capacity: 302,400 kg/year

Raw material cost: $0.40/100 kg

Raw material kg/yr	kg Raw material/kg product	Raw material costs	
		$/yr	$/kg product
1,008,000	3.33	4,032.00	0.013

	$/yr	$/kg product
Labor costs (8 h shift)	7,782.40	0.026
Utilities (additives for substrate, electricity, water, etc.)	32,328.00	0.107
Indirect costs (storage, transport, insurance, etc.)	6,326.06	0.021
Total processing costs (Tpc)	50,468.46	0.167
Packaging (5% Tpc)	2,321.82	0.008
Depreciation (8% of plant cost)	11,856.00	0.039
Marketing (10% of product price)	8,404.02	0.028
Total product costs	73,050.30	0.242
Product price (30% added value)	84,040.16	0.278
Gross profit (GP)	10,989.86	0.036
Tax (35% of GP)	3,846.45	0.013
Net profit	7,143.41	0.023

Incap 88-206

TABLE 27

ESTIMATED COSTS OF SUBSTRATE ADDITIVES AND TECHNICAL AUXILIARY MATERIALS FOR THE SOLID STATE FERMENTATION OF COFFEE PULP*

Materials	Costs ($)
Agar (12 kg, $80.00/kg)	960.00
Petri dishes (12 packs, $4.80/pack)	57.60
Hydrochloric acid (3,780 Lts., $1.33/Lt.)	5,040.00
Tartaric acid (1 kg)	120.00
Urea (6,300 kg, $0.35/kg)	2,217.60
Dicalcium phosphate (5,040 kg, $0.57/kg)	2,882.88
Total	11,278.08

* For a year production of 302,400 kg of fermented product.

Incap 88-97

TABLE 28

FIX COSTS FOR COFFEE PULP PROCESSING THROUGH SOLID STATE FERMENTATION USING THE TRAY FERMENTING ALTERNATIVE

Equipment (Installed):		
210	Fermenting trays	$ 21,000.00
1	Fermenting cabinet	10,500.00
1	Hammer mill, 3 hp engine	4,000.00
1	Rotatory dryer, 3 hp engine	1,600.00
1	Thermostat	600.00
1	Mixer	3,600.00
1	Compressor, 3 hp engine	1,600.00
1	Humidifier	1,200.00
	Laboratory equipment	1,200.00
	Office equipment	800.00
	Auxiliary equipment	800.00
Total equipment costs		46,900.00
Building costs		6,000.00
Land		2,000.00
External connections		2,000.00
Engineering costs		6,400.00
Total fix costs		$ 63,300.00

Incap 88-103

TABLE 29

PROCESSING COSTS OF COFFEE PULP THROUGH SOLID STATE FERMENTATION USING THE TRAY FERMENTING ALTERNATIVE

Plant cost: $63,300.00 Production capacity: 302,400 kg/yr.

Raw material cost: $0.40/100 kg

Raw material kg/yr	kg Raw material/kg product	Raw material costs	
		$/yr	$/kg product
1,008.000	3.33	4,032.00	0.013

	$/year	$/kg of product
Labor costs (8 hr. shift)	7,782.40	0.026
Utilities (additives for substrate, electricity, water, etc.)	15,180.00	0.050
Indirect costs (storage, transport, insurance, etc.)	6,362.00	0.021
Total processing cost (Tpc)	33,356.40	0.110
Packaging (5% Tpc)	1,667.82	0.006
Depreciation (8% of plant cost)	4,232.00	0.014
Marketing (10% of product price)	5,103.31	0.017
Total product costs	44,359.53	0.147
Product price (30% added value)	51,033.09	0.169
Gross profit (GP)	6,673.56	0.022
Tax (35% of GP)	2,335.75	0.008
Net profit	4,337.81	0.014

Incap 88-104

TABLE 30

WEIGHT GAIN, FEED CONSUMPTION AND FEED EFFICIENCY OF CHICKENS FED RATIONS CONTAINING FERMENTED AND UNFERMENTED COFFEE PULP*

Parameter estimated	Control ration	Rations with coffee pulp					
		Fermented			Unfermented		
		5%	10%	15%	5%	10%	15%
Feed consumption (kg/6 wks.)	2.93 ± 0.12**	3.12 ± 0.04	3.08 ± 0.05	3.14 ± 0.10	3.25 ± 0.09	3.16 ± 0.12	3.03 ± 0.17
Weight gain (kg/6 wks.)	1.44 ± 0.05[a,b]	1.50 ± 0.05[a]	1.40 ± 0.06[a,b]	1.43 ± 0.09[a,b]	1.52 ± 0.08[a]	1.38 ± 0.04[a,b]	1.19 ± 0.07[b]
Feed efficiency	2.03 ± 0.09[a]	2.08 ± 0.05[a,b]	2.21 ± 0.09[a,b]	2.20 ± 0.09[a,b]	2.14 ± 0.08[a,b]	2.29 ± 0.03[a,b]	2.55 ± 0.09[c]

* Evaluated in 30 chickens per diet, divided in 3 groups. Average initial weight 80.9 g.

** Standard deviation of the mean. Different letters indicate statistically significant difference ($P < 0.05$).

TABLE 31

WEIGHT GAIN, FEED CONSUMPTION AND FEED EFFICIENCY OF CHICKENS FED THE CONTROL RATION ALONE AND WITH THE ADDITION OF CAFFEINE, TANNIC ACID AND COFFEE PULP ASHES*

Parameter estimated	Control ration			
	Alone	Plus 0.14o/o caffeine	Plus 2.10o/o ashes	Plus 0.14o/o caffeine, 2.10o/o ashes and 0.79o/o tannic acid
Feed consumption (kg/6 wks.)	2.93 ± 0.12[a,b]**	1.82 ± 0.18[c]	2.91 ± 0.18[a,b]	2.76 ± 0.08[b]
Weight gain (kg/6 wks.)	1.44 ± 0.05[a,b]	0.80 ± 0.12[c]	1.41 ± 0.18[a,b]	1.28 ± 0.09[a,b]
Feed efficiency	2.03 ± 0.09[a]	2.30 ± 0.13[b,c]	2.07 ± 0.12[a,b]	2.17 ± 0.10[a,b]

* Evaluated in 30 chickens per diet, divided in 3 groups. Average initial weight 80.9 g. The amount of caffeine, tannic acid and coffee pulp ashes added was that found in the rations containing 15o/o unfermented coffee pulp.

** Standard deviation of the mean. Different letter indicate statistically significant difference ($P < 0.05$).

Incap 88-276

TABLE 32

ANALYSIS OF VARIANCE OF THE WEIGHT GAIN DATA OBTAINED IN CHICKENS FED DIETS CONTAINING EITHER FERMENTED OR UNFERMENTED PULP, OR CAFFEINE (0.14%), OR TANNIC ACID (0.79%) OR THE ASHES OF 15 lbs OF DRIED COFFEE PULP

Source of variation	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean squares	F ratio	F probability
Between groups	0	1222413.62	135823.74	16.49	0.00
Within groups	20	164753.83	8237.69		
Total	29	1387167.46			

TABLE 33

ANALYSIS OF VARIANCE OF THE FEED CONSUMPTION DATA OBTAINED IN CHICKENS FED RATIONS CONTAINING EITHER FERMENTED OR UNFERMENTED PULP, OR CAFFEINE (0.14%), OR TANNIC ACID (0.79%) OR THE ASHES OF 15 lbs. OF DRIED COFFEE PULP

Source of variation	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean squares	F ratio	F probability
Between groups	9	4572429.13	508047.68	32.95	0.00
Within groups	20	308373.41	15418.67		
Total	29	4880802.54			

TABLE 34

ANALYSIS OF VARIANCE OF THE FEED EFFICIENCY OBTAINED IN CHICKENS FED RATIONS CONTAINING EITHER FERMENTED OR UNFERMENTED PULP, OR CAFFEINE (0.14%), OR TANNIC ACID (0.79%) OR THE ASHES OF 15 lbs. OF DRIED COFFEE PULP

Source of variation	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean squares	F ratio	F probability
Between groups	9	0.61	0.07	8.40	0.00
Within groups	20	0.16	0.01		
Total	29	0.77			

TABLE 35

WEIGHT GAIN, FEED CONSUMPTION AND FEED EFFICIENCY OF SWINE FED RATIONS CONTAINING 20% OF FERMENTED OR UNFERMENTED COFFEE PULP

Parameter measured	Control ratio	Rations with 20% coffee pulp Fermented	Unfermented
Feed consumption (kg/8 wks.)	78.56 ± 9.20**	86.77 ± 8.60	76.36 ± 7.50
Weight gain (kg/8 weeks.)	37.33 ± 3.37[a]	32.67 ± 1.89[a]	26.92 ± 4.48[b]
Feed efficiency	2.11 ± 0.26[a]	2.66 ± 0.26[b]	2.88 ± 0.35[b]

* Evaluated in 8 Landras swine, average initial weight 17.5 kg. Feed consumption and weight gain were determined weekly and individually.

** Standard deviation of the mean. Different letters indicate statistically significant difference ($P < 0.05$).

Incap 88-275

TABLE 36

ANALYSIS OF VARIANCE OF THE WEIGHT GAIN DATA OBTAINED IN SWINE FED DIETS CONTAINING EITHER FERMENTED OR UNFERMENTED COFFEE PULP

Source of variation	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean squares	F ratio	F probability
Between groups	2	326.69	163.35	14.01	0.00
Within groups	15	174.88	11.66		
Total	17	501.57			

TABLE 37

ANALYSIS OF VARIANCE OF THE FEED EFFICIENCY OBTAINED IN SWINE FED DIETS CONTAINING EITHER FERMENTED OR UNFERMENTED COFFEE PULP

Source of variation	Degrees of freedom	Sum of squares	Mean squares	F ratio	F probability
Between groups	2	1.86	0.93	10.70	0.00
Within groups	15	1.31	0.09		
Total	17	3.17			

TABLE 38

MAIN FINDINGS IN THE NECROPSY OF CHICKENS FED DIETS CONTAINING FERMENTED OR UNFERMENTED COFFEE PULP

Diet	Main findings
Control	None
5°/o Fermented pulp	None
10°/o Fermented pulp	None
15°/o Fermented pulp	Petechial hemorrhages in the small and large intestine.
5°/o Unfermented pulp	Petechial hemorrhages in the small and large intestine and the blind sacks. Thickening of the mucosa from the glandular stomach.
10°/o Unfermented pulp	Hemorrhagic and ulcerated areas of the small intestine mucosa. Suffusion type of hemorrhages in the large intestine. Severe thickening of the muscular stomach mucosa.
15°/o Unfermented pulp	Equimotic hemorrhages in the small and large intestine, as well as in the blind sacks. Tumefaction of the lobules of the liver.

Incap 88-273

TABLE 39

MAIN FINDINGS IN THE NECROPSY OF CHICKENS FED THE CONTROL RATION ALONE AND WITH THE ADDITION OF CAFFEINE, TANNIC ACID AND COFFEE PULP ASHES*

Control ration	Main findings
Alone	None
Plus 2.10%/o ashes	Pethechial hemorrhages in the small intestine, suffusion type of hemorrhages in the large intestine, desquamation of the mucosa in the preventricle. Severe thickening of the mucosa in the muscular stomach. Petechial hemorrhages in the liver.
Plus 0.14%/o caffeine	Petechial hemorrhages, desquamation of the mucosa and irritation of the intestinal walls in the small intestine. Petechial hemorrhages in the large intestine and in the trachea. Severe thickening of the glandular stomach walls.
Plus 2.10%/o ashes, 0.14%/o caffeine and 0.79%/o tannic acid	Equimotic hemorrhages in the small and large intestine and in the blind sacks.

* The amount of caffeinee tannic acid and coffee pulp ashes added was that found in the rations containing 15%/o unfermented coffee pulp.

Incap 88-272

TABLE 40

MAIN FINDINGS IN THE NECROPSY OF SWINE FED RATIONS CONTAINING 20% OF FERMENTED OR UNFERMENTED COFFEE PULP

Diet	Main findings
Control	None
20% fermented pulp	None
20% unfermented pulp	Hemorrhagic congestion of the gastric mucosa. Congestioned areas in the small and large intestine. Linfoplasmocitary infiltrations, congestion and dilatation of blood vessels in the small intestine. Hepatocytes with hydropic degeneration in the liver.

Incap 88-271

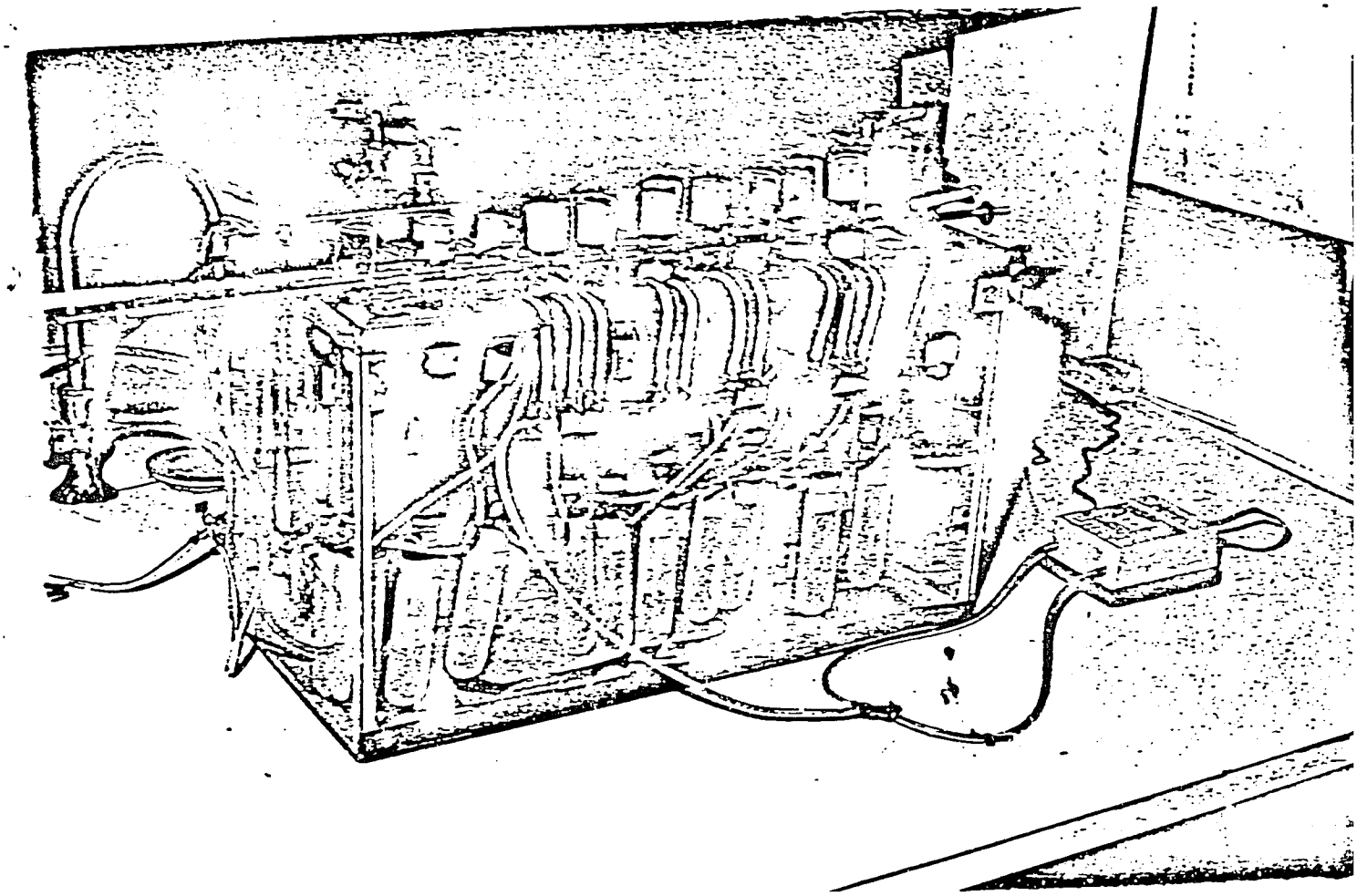
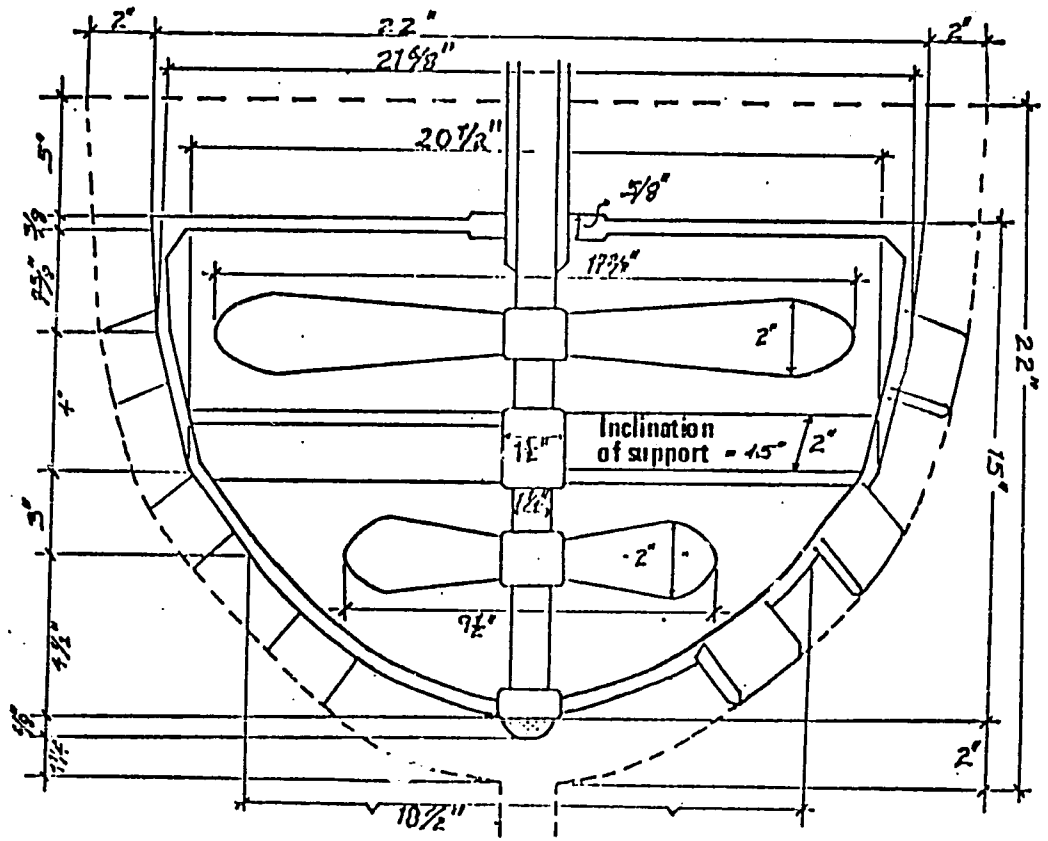


FIGURE 1

LABORATORY SCALE UNIT USED FOR THE SOLID STATE FERMENTATION OF COFFEE PULP

FIGURE 2

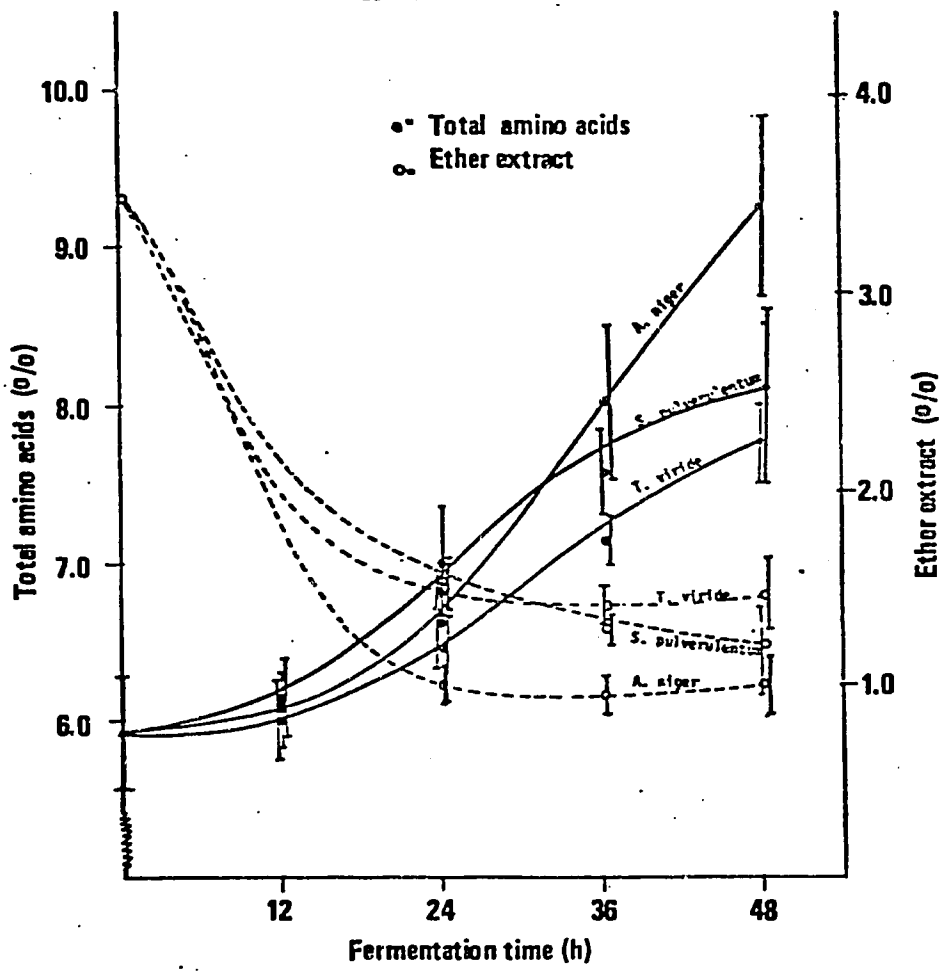
AERATION AND AGITATION UNIT FOR THE SOLID STATE FERMENTATION OF COFFEE PULP



Incap 88-112

FIGURE 3

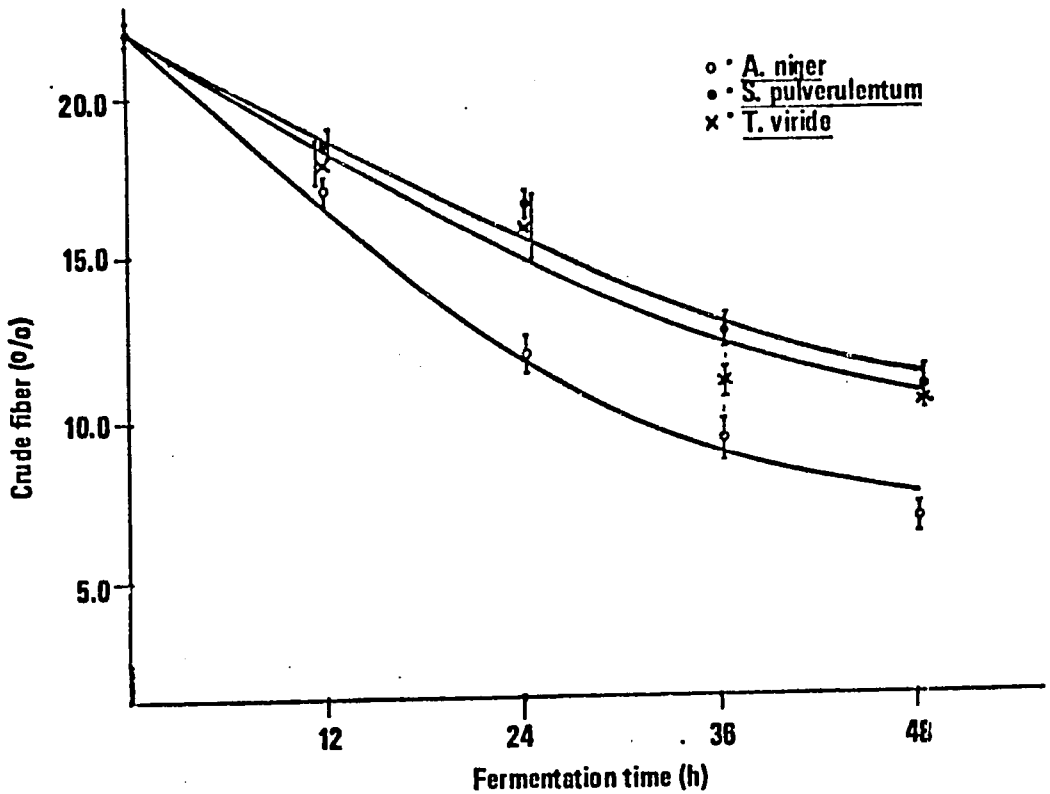
EFFECT OF FERMENTATION TIME ON THE TOTAL AMINO ACID AND ETHER EXTRACT CONTENTS OF COFFEE PULP INOCULATED WITH *Aspergillus niger*, *Sporotrichum pulverulentum* AND *Trichoderma viride* (Substrate basis)



Incap 88-110

FIGURE 4

EFFECT OF FERMENTATION TIME ON THE CRUDE FIBER CONTENT OF COFFEE PULP INOCULATED WITH Aspergillus niger, Sporotrichum pulverulentum AND Trichoderma viride.
(Substrate basis)



Incap 88-111

EFFECT OF FERMENTATION TIME ON THE POLYPHENOLS CONTENT OF THE PRODUCTS FROM COFFEE PULP SUBJECTED TO SOLID STATE FERMENTATION USING DIFFERENT MOLDS

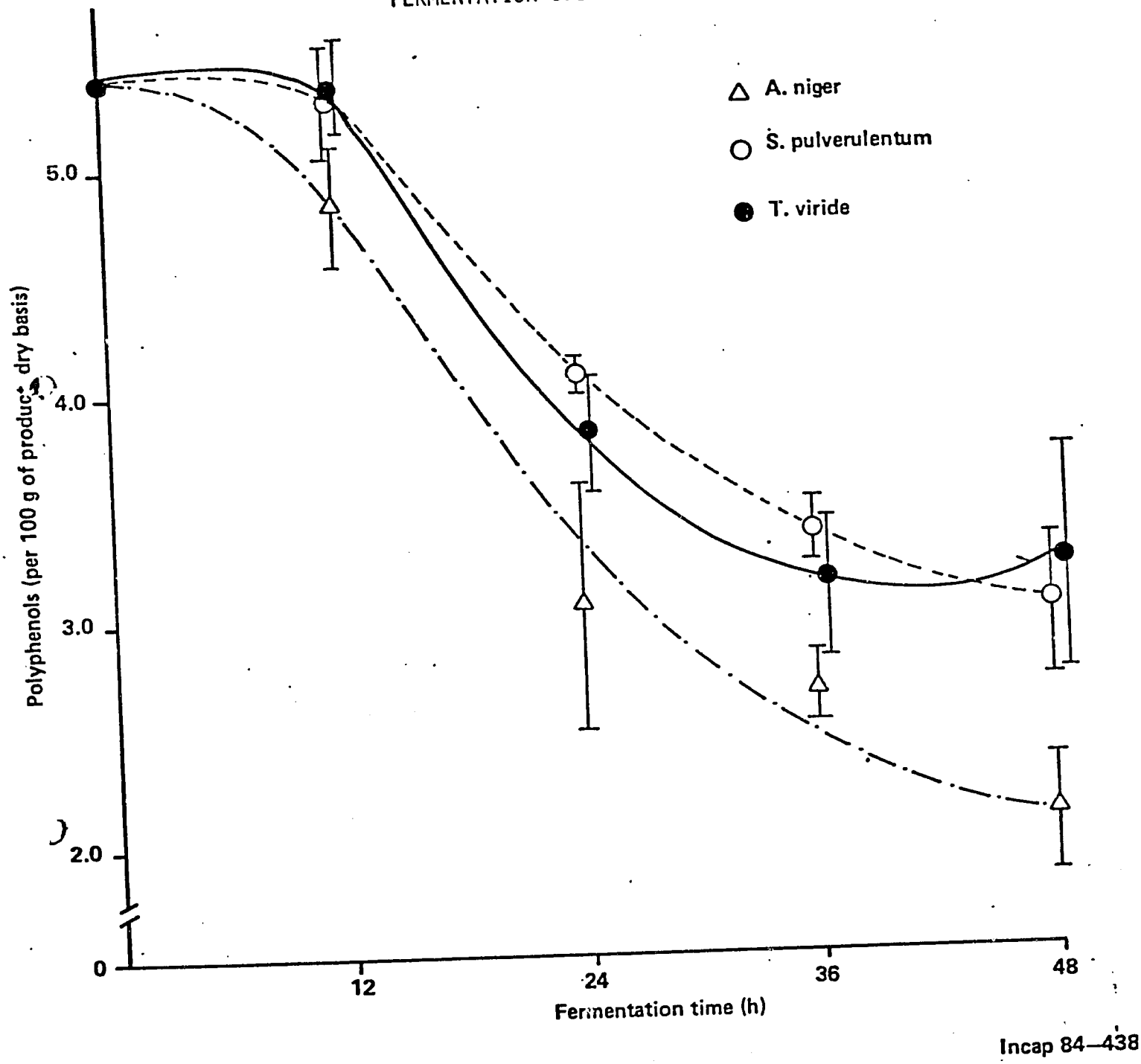
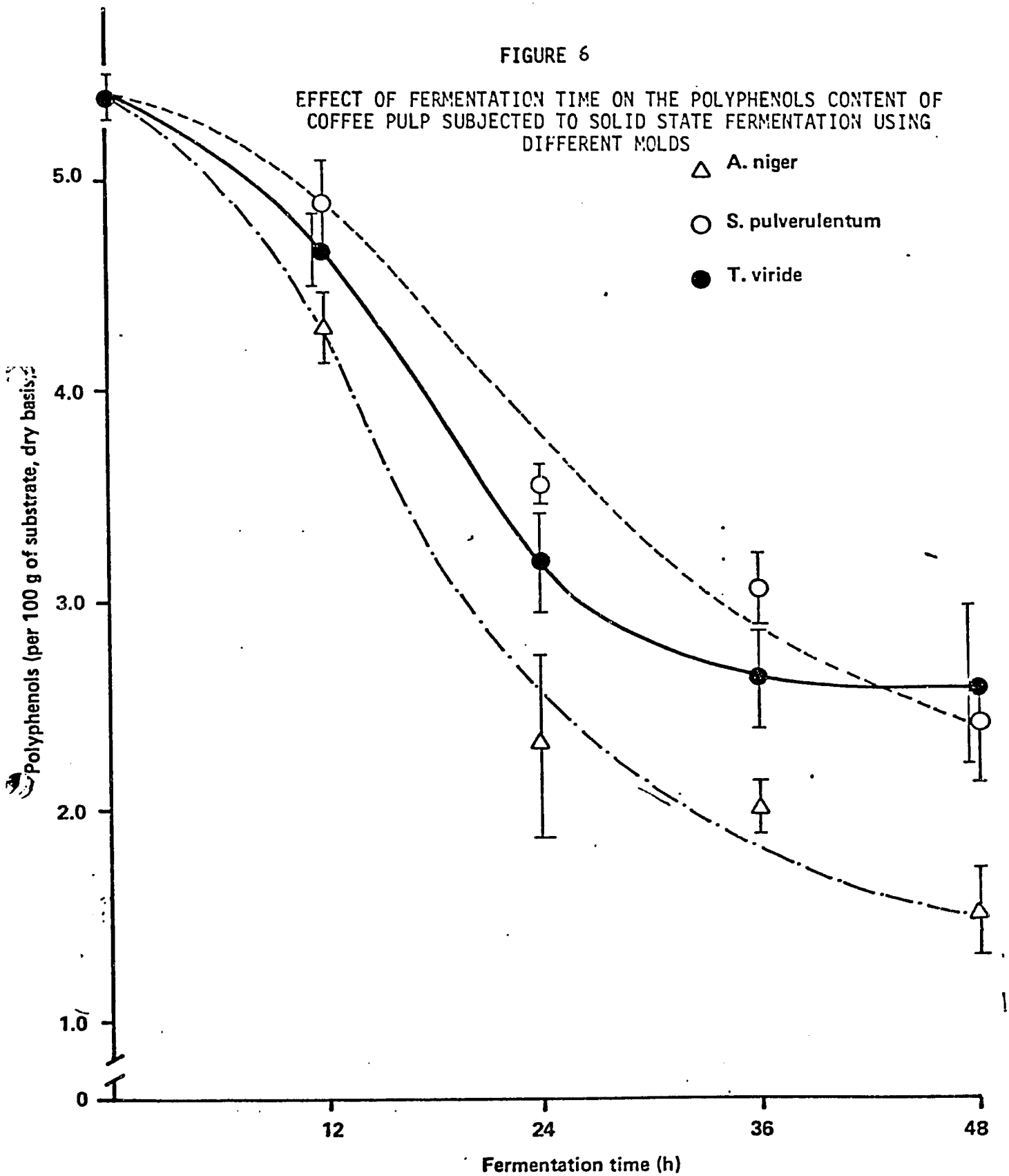


FIGURE 5

FIGURE 6

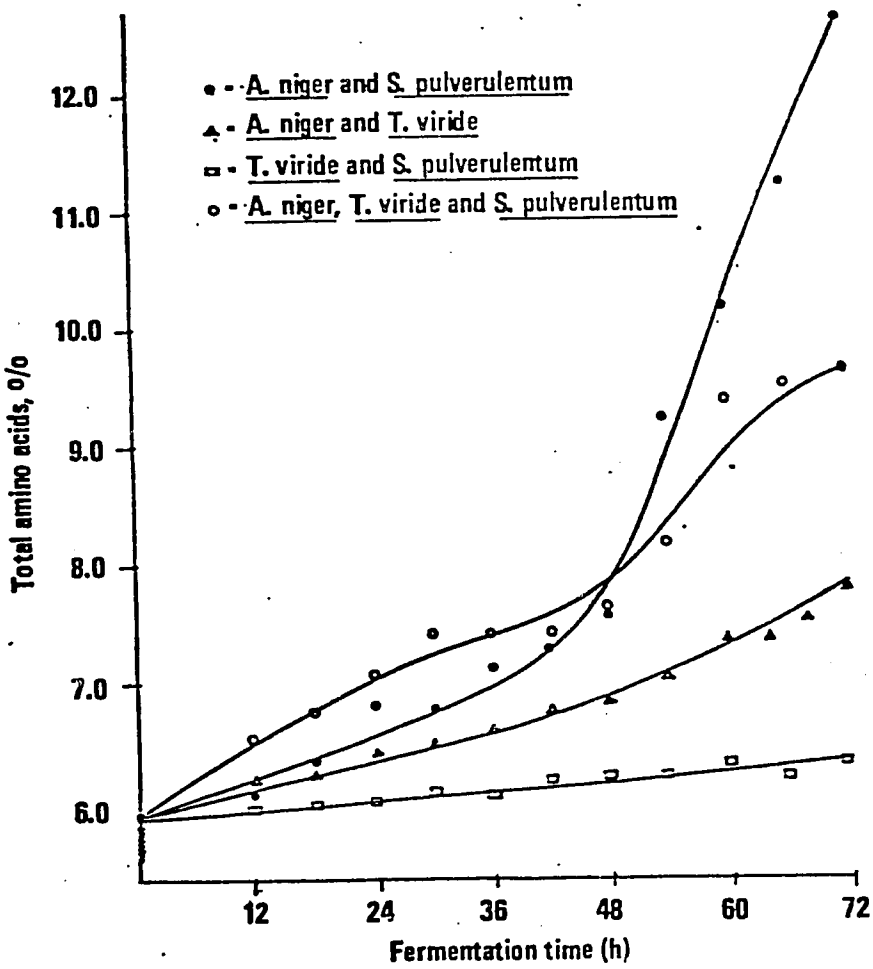
EFFECT OF FERMENTATION TIME ON THE POLYPHENOLS CONTENT OF COFFEE PULP SUBJECTED TO SOLID STATE FERMENTATION USING DIFFERENT MOLDS



Incap 84—439

FIGURE 7

EFFECT OF FERMENTATION TIME ON THE TOTAL AMINO ACID CONTENT OF COFFEE PULP FERMENTED WITH MIXED INOCULA OF Aspergillus niger, Sporotrichum pulverulentum AND Trichoderma viride



Incap 88-109

COMPLEMENTARY STUDIES ON THE EVALUATION OF SOLID STATE FERMENTATION OF COFFEE PULP

Mario R. Molina and Ricardo Bressani

I. INTRODUCTION

Coffee pulp, the most abundant by-product of coffee processing, has proved to have a potential utilization as animal feed, both for monogastric animals as well as for ruminants. Previous evaluations have shown that the material presents some anti-nutritional factors which limit its utilization as animal feed. The main factors having an anti-nutritional effect have been identified as the caffeine and polyphenols contained in the material. As well, its relatively large fiber content (around 25%) has been considered a limitation for the use of coffee pulp in monogastric animals' rations (as chickens or swine).

A solid state fermentation of the pulp using the mould Aspergillus niger has proven to significantly lower the caffeine and polyphenolic content of the pulp. Further, it also significantly reduces the fiber content of the material, raising its total amino acid (or true protein) content from around 5.0 to approximately 15%. Present evaluations in chickens have shown that the fermented material can substitute 15% of the maize in the ration without causing the side effects observed when the pure caffeine contained in an equivalent 15% of unfermented pulp is added to the ration. Similar satisfactory results are being obtained with swine feed rations containing 20% of the fermented pulp in replacement of maize. Economical evaluations have shown that the fermented coffee pulp, with a true protein content of 15%, could be produced at a cost of US$0.06/lb. (with a selling

price of US$0.08/lb.), price about 20% lower than the current selling price of maize (9% protein) US$0.10/lb.

Based on all the above it is considered of great interest to evaluate the production of the fermented pulp at relatively large semi-agro-industrial scale (to obtain a corroboration on the production costs), and to evaluate the possible inclusion of the fermented material at higher percentage than those cited above. Considering that chickens are one of the most sensitive species to detect the adverse effects of coffee pulp, the complementary experimentation is proposed in this type of animal.

It is evident the nutritional significance that could have the possibility of saving 20 to 30% of the maize presently used for chicken and swine rations to be used for human consumption.

II. OBJECTIVES

The objectives of this complementary experimentation are:

1. To evaluate the production costs of the solid state fermented coffee pulp at a semi-agroindustrial scale.

2. To determine the possible inclusion of the fermented coffee pulp using *A. niger* at levels of up to 30% in commercial type chicken rations at the expense of maize.

3. To diseminate the information obtained to other coffee producing countries of Latin America and the world.

III. METHODOLOGY

Objective 1

Available coffee pulp will be subjected to solid state fermentation using *A. niger* through the tray appropriate technology developed using a fermentation room where 35°C will be thermostatically controlled and an 80% relative humidity will be mantained with water reservoirs (located inside the room), through which air will be blown at about 10 to 20 liters/min. The trays will be approximately 1 m^2 with a holding capacity of 15 lb. dry pulp/tray, at a height of 2 inches. The capacity of the room will be of 20 trays in 2 racks of 10 trays each. Fermentation batches for the established optimum time (48 h.) will be prepared. At least in five batches the operational costs involved will be determined, quantifying electricity, water and other expenditures, as well as the labor and chemicals used. A fermentation trial will be carried out using a fertilizer mixture as the source of nitrogen and phosphorus, in replacement of the commercial urea and calcium phosphate presently used. This in order to establish the possible alternative of using adequate N-P commercial fertilizer mixes as a lower cost and/or a more available option in some places. The fermented material will be sun dried and milled to 60 mesh prior to prepare the diets.

From all the above it is expected to obtain the operational cost figures of the process using the different options of nitrogen and phosphorus sources available and the most appropriate technology feasible to be applicable at a coffee processing site.

Objective 2

Typical standard commercial growing chicken rations will be prepared with cottonseed and maize, as well as soybean and maize mixtures. Also, diets including in their formulation 20, 25 and 30% of the fermented and unfermented coffee pulp will be prepared isoproteic. The feeding trials in the growing chicken experiments will be run for 8 weeks using 3 day old animals and 3 groups of 10 animals per diet. The diets and water will be offered "ad-libitum". Weight gain and feed consumption will be recorded weekly.

The diets will be analyzed for caffeine, polyphenols, potassium, cell wall constituents and crude fiber. With the biological data collected the feed consumption will be calculated, and possible correlations between these biological data and the chemical findings will be looked upon. At the end of the feeding trials the animals will be sacrificed and a veterinary necropsy will be carried out, trying to establish the type of lessions (if any) cause by the diets.

Objective 3

The disemination of the findings will be effected through the presentation of the technological data at the V Meeting of the Latin American Food Science and Technology Association, to be held in Bogotá, Colombia, from the 10 to the 15th of next October. Also, by the presentation of the nutritional findings at the VIII Meeting of the Latin American Nutrition Society, to be held in Viña del Mar, Chile, next November (8 to 11). As well, at least two manuscripts will be prepared during this period (next 6 months) to be submitted for publication in international journals.

IV. DURATION OF THE COMPLEMENTARY STUDIES

All the above activities are expected to be completed in six months.

V. RE-ALLOCATION OF REMAINING FUNDS

In order to carry out the above cited activities at no extra cost, it is considered necessary to effect a re-allocation of part of the remaining funds on the present contract. The re-allocation requested is as follows:

Description	Budgeted 1-04-84 to 30-06-88.	Transfer requested	New budget
Salaries			
Professional	$ 24,825.00	+ 10,000.00	34,825.00
Technicians	47,664.00	- 10,000.00	37,664.00
Equipment/Materials			
Reagents for chemical analysis	14,825.00	- 1,000.00	13,825.00
Mold strain, culture media and external nutrients	750.00	+ 1,000.00	1,750.00
General operating expenditures (photocopies, office supplies, telephone calls, etc.)	0.00	+ 1,000.00	1,000.00
Construction and conditioning of fermenting unit	8,000.00	- 3,000.00	5,000.00
Chicken feeding trials	5,200.00	- 2,000.00	3,200.00
Swine feeding trials	6,500.00	- 1,500.00	5,000.00
Training/Consultation			
Tutorial students	5,000.00	+ 2,000.00	7,000.00
Travel	2,500.00	+ 4,500.00	7,000.00
Other costs			
Analysis of data	3,000.00	- 1,000.00	2,000.00
Publications	1,000.00	-----	1,000.00
Administrative costs	29,816.00	-----	29,816.00
TOTALS:	$149,080.00	---	149,080.00

It is considered that both the professional salaries and tutorial students components need to be increased to assure the involvement of engineering, economics and veterinary trained personnel both, for the costs analysis of the process as well as for the veterinary necropsy of the animals after the feeding trials.

There is a need to open a general operating expenditure component to cover all expenses as photocopies, telephone calls, etc.

The travel component needs to be increased to cover objective 3 as well as to assure the necessary funds to set the fermentation trials of objective 1 at a coffee processing site which could assure practical semi-agro-industrial conditions. For this purpose, there are possible colaborations of different coffee producers, both in Guatemala as well as in other Central American countries.

As may be seen in the above Table, all the increases can be cover with the savings obtained in other components, without affecting the quality and success of the complementary activities proposed.

XN-ABC-849-A

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERIA
ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA

"DISEÑO Y EVALUACION DEL PROCESO DE FERMENTACION SOLIDA DE LA PULPA DE CAFE"

JORGE LEONEL RIVERA MENDEZ

Dic 14, 1988
Rec'd 3 sa

GUATEMALA, ENERO DE 1988

91

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE INGENIERIA

DISEÑO Y EVALUACION DEL PROCESO DE FERMENTACION SOLIDA DE LA PULPA DE CAFE

T E S I S

Presentada a la Honorable Junta Directiva
de la Facultad de Ingeniería

POR

JORGE LEONEL RIVERA MENDEZ

Al Conferírsele el Título de

INGENIERO QUIMICO

T-435
INCAP

Guatemala, Enero de 1988

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

Cumpliendo con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de tesis titulado:

DISEÑO Y EVALUACION DEL PROCESO DE FERMENTACION SOLIDA DE LA PULPA DE CAFE,

tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de

INGENIERIA QUIMICA

con fecha 4 de febrero de 1986.

firma del estudiante

MIEMBROS DE JUNTA DIRECTIVA

DECANO	ING. ROBERTO MAYORGA ROUGE
VOCAL 1o.	ING. JACINTO QUAN CHU
VOCAL 2o.	ING. JORGE MARIO MORALES
VOCAL 3o.	ING. PEDRO AGUILAR POLANCO
VOCAL 4o.	BR. CARLOS EFRAIN ZECEÑA
VOCAL 5o.	BR. BORIS ENRIQUEZ CENTES
SECRETARIO:	ING. PEDRO AGUILAR POLANCO

TRIBUNAL QUE PRACTICO EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO	ING. ROBERTO MAYORGA ROUGE
EXAMINADOR	ING. HECTOR ADOLFO RUIZ GODOY
EXAMINADOR	ING. Q. CESAR ALFONSO GARCIA G.
EXAMINADOR	ING Q. ALBERTO ARANGO
SECRETARIO	ING. PEDRO AGUILAR POLANCO

INSTITUTO DE NUTRICION DE CENTRO AMERICA Y PANAMA

OFICINA SANITARIA PANAMERICANA
Oficina Regional de la
ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD

IN-120-87/CAE

29 de septiembre de 1987

Ing. Rodolfo Espinosa, Director
Escuela de Ingeniería Química
Universidad de San Carlos de Guatemala
Ciudad Universitaria
Presente

Estimado Ing. Espinosa:

Por este medio le comunico que he revisado el informe final de tesis del Br. Jorge Leonel Rivera Méndez, intitulado: "Diseño y Evaluación del Proceso de Fermentación Sólida de la Pulpa de Café", el cual lo he encontrado satisfactorio. Considero que dicho trabajo no solo cumple con los requisitos para ser presentado como informe final de tesis, sino también representa un aporte académico valioso que apoya una alternativa plausible para el uso de un subproducto como la pulpa de café en la alimentación animal.

Agradeciendo su atención a la presente, quedo de usted,

Muy atentamente,

Mario R. Molina, M.Sc., Ph.D.

Calzada Roosevelt Zona 11 — Apartado Postal 1188 — Teléfonos: 723762 al 723767 — Cable: INCAP — Telex: 5696 INCAP
Guatemala, C. A.

45

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS
DE GUATEMALA

FACULTAD DE INGENIERIA

Escuelas de Ingeniería Civil, Ingeniería Mecánica Industrial, Ingeniería Química, Ingeniería Mecánica Eléctrica, Tecnica y Regional de Post-grado de Ingeniería Sanitaria.

Ciudad Universitaria, Zona 12
Guatemala, Centroamérica

Guatemala, 27 de octubre de 1987.

Ingeniero
Rodolfo Espinosa
Director Escuela Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería
Presente.

Estimado Ingeniero.

Por este medio me permito informar a usted que habiendo revisado el Trabajo de Tesis del estudiante Jorge Leonel Rivera Méndez titulado: DISEÑO Y EVALUACION DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN SOLIDA DE LA PULPA DE CAFE, dejo constancia de aprobación para proceder a la autorización del mismo.

Sin otro particular y agradeciéndole la atención que se sirva dar a la presente, quedo de usted.

Atentamente,

" ID Y ENSEÑAD A TODOS "

Ing. Edgar Bravatti
REVISOR

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS
DE GUATEMALA

FACULTAD DE INGENIERIA

Escuelas de Ingeniería Civil, Ingeniería Mecánica Industrial, Ingeniería Química, Ingeniería Mecánica Eléctrica, Tecnica y Regional de Post-grado de Ingeniería Sanitaria.

Ciudad Universitaria, Zona 12
Guatemala, Centroamérica

El Director de la Escuela de Ingeniería Química; ING. RODOLFO ESPINOSA, después de conocer el dictamen del Asesor con el visto Bueno del Jefe de Departamento, al trabajo de tesis del estudiante; JORGE LEONEL RIVERA MENDEZ titulado: DISEÑO Y EVALUACION DEL PROCESO DE FERMENTACION SOLIDA DE LA PULPA DE CAFE procede a la autorización del mismo.

Ing. Rodolfo Espinosa
DIRECTOR
ESCUELA INGENIERIA QUIMICA

Guatemala, 29 de octubre de 1987.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS
DE GUATEMALA

FACULTAD DE INGENIERIA

Escuelas de Ingeniería Civil, Ingeniería Mecánica Industrial, Ingeniería Química, Ingeniería Mecánica Eléctrica, Técnica y Regional de Post-grado de Ingeniería Sanitaria.

Ciudad Universitaria, Zona 12
Guatemala, Centroamérica

El Decano de la Facultad de Ingeniería, luego de conocer la autorización por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al trabajo de tesis titulado: DISEÑO Y EVALUACION DEL PROCESO DE FERMENTACION SOLIDA DE LA PULPA DE CAFE

del estudiante: JORGE LEONEL RIVERA MENDEZ

Procede a la autorización para la impresión de la misma.

IMPRIMASE:

Ing. Roberto Mayorga R.
DECANO

Guatemala, 29 de octubre de 1987

DEDICO ESTE ACTO

A DIOS

A MIS PADRES: Timoteo Rivera Orozco
Josefina Méndez de Rivera

A MIS HERMANOS: Pfa. Ana María Rivera
Ing. Israel Rivera
Ing. Nehemías Rivera

A MI SOBRINO: Pablo José

A MIS ABUELOS

A MIS FAMILIARES

A MIS AMIGOS

AGRADECIMIENTOS

Expreso mi especial agradecimiento al Dr. Mario Roberto Molina, por su valiosa asesoría, orientación y colaboración brindada para la realización de este trabajo de investigación.

Extensivo mi agradecimiento al Instituto Nutricional de Centro América y Panamá; a los Profesionales y Personal Técnico de la División Química Agrícola, especialmente al Ing. Q. Marco Antonio Batten.

CONTENIDO

		Pág.
I.	RESUMEN	1
II.	INTRODUCCION	3
III.	REVISION DE LITERATURA	4
IV.	JUSTIFICACIONES	17
V.	OBJETIVOS	18
VI.	HIPOTESIS	19
VII.	MATERIALES Y METODOS	20
	DESARROLLO DE TECNOLOGIA	23
	PROYECTO ECONOMICO DE INGENIERIA	29
VIII.	RESULTADOS Y DISCUSION	32
IX.	CONCLUSIONES	45
X.	RECOMENDACIONES	47
XI.	BIBLIOGRAFIA	48
XII.	ANEXOS	52

101

LISTA DE CUADROS

CUADRO 1 PRODUCCION DE CAFE EN LA DECADA 1974-1984

CUADRO 2 DISTRIBUCION PORCENTUAL DEL GRANO DE CAFE CEREZA.

CUADRO 3 COMPOSICION QUIMICA PROXIMAL DE LA PULPA DE CAFE

CUADRO 4 COMPUESTOS ORGANICOS DE LA PULPA DE CAFE

CUADRO 5 MINERALES DE LA PULPA DE CAFE

CUADRO 6 AMINOACIDOS DE LA PULPA DE CAFE COMPARADA CON LA DE OTROS CEREALES

CUADRO 7 VARIACION DE LAS SALES UREA, K_2HPO_4 Y $(NH_4)_2SO_4$, PARA CADA TRATAMIENTO DE PULPA DE CAFE A FERMENTAR

CUADRO 8 AMINOACIDOS TOTALES DE LA PULPA DE CAFE FERMENTADA

CUADRO 9 CONTENIDO DE CAFEINA DE LA PULPA DE CAFE FERMENTADA

CUADRO 10 CONTENIDO DE CENIZAS DE LA PULPA DE CAFE FERMENTADA

CUADRO 11 EXTRACTO ETEREO DE LA PULPA DE CAFE FERMENTADA

CUADRO 12 FIBRA CRUDA DE LA PULPA DE CAFE FERMENTADA

CUADRO 13 TANINOS DE LA PULPA DE CAFE FERMENTADA

CUADRO 14 PERDIDA DE MATERIA SECA EN EL PROCESO DE FERMENTACION

CUADRO 15 EFECTO DE LAS SALES AGREGADAS A LA PULPA SOBRE EL CONTENIDO DE AMINOACIDOS DE LA PULPA DE CAFE

CUADRO 16 EFECTO DE LAS SALES AGREGADAS SOBRE LA CAFEINA EN LA PULPA DE CAFE FERMENTADA

CUADRO 17 EFECTO DE LAS SALES SOBRE EL CONTENIDO DE CENIZAS DE LA PULPA DE CAFE FERMENTADA

CUADRO 18 EFECTO DE LAS SALES SOBRE EL CONTENIDO DE EXTRACTO ETEREO DE LA PULPA DE CAFE FERMENTADA

CUADRO 19 EFECTO DE LAS SALES AGREGADAS SOBRE EL CONTENIDO DE FIBRA CRUDA DE LA PULPA DE CAFE FERMENTADA

CUADRO 20 EFECTO DE LAS SALES AGREGADAS SOBRE EL CONTENIDO DE NITROGENO DE LA PULPA DE CAFE FERMENTADA

CUADRO 21 HUMEDAD Y pH INICIAL Y FINAL DE LA PULPA FERMENTADA

CUADRO 22 COMPOSICION QUIMICA PROXIMAL DE LA PULPA DE CAFE FERMENTADA EN PLANTA PILOTO (PRIMERA ALTERNATIVA)

CUADRO 23 COSTOS FIJOS CALCULADOS PARA LA PRIMERA ALTERNATIVA DE FERMENTACION

CUADRO 24 COSTOS DE MANUFACTURA PARA LA PRIMERA ALTERNATIVA DE FERMENTACION

CUADRO 25 COSTOS FIJOS DE LA SEGUNDA ALTERNATIVA DE FERMENTACION

CUADRO 26 COSTOS DE MANUFACTURA PARA LA SEGUNDA ALTERNATIVA DE FERMENTACION

CUADRO 27 ESTIMACION DE LOS COSTOS DE LOS MATERIALES AUXILIARES DE FERMENTACION

LISTA DE GRAFICAS

GRAFICAS 11-3	AMINOACIDOS DE LA PULPA DE CAFE FERMENTADA EN FUNCION DE LAS SALES AGREGADAS
GRAFICAS 4-6	CAFEINA DE LA PULPA DE CAFE FERMENTADA EN FUNCION DE LAS SALES AGREGADAS
GRAFICA 7	CENIZAS DE LA PULPA DE CAFE FERMENTADA EN FUNCION DEL FOSFATO DIBASICO DE POTASIO AGREGADO
GRAFICAS 8-10	FIBRA CRUDA DE LA PULPA DE CAFE FERMENTADA EN FUNCION DE LAS SALES AGREGADAS
GRAFICAS 11-12	FIBRA CRUDA DE LA PULPA DE CAFE FERMENTADA EN FUNCION DE LAS SALES AGREGADAS
GRAFICAS 13-15	NITROGENO TOTAL DE LA PULPA DE CAFE FERMENTADA EN FUNCION DE LAS SALES AGREGADAS

LISTA DE DIAGRAMAS

DIAGRAMA 1	PROCESO DE DESPULPADO DEL GRANO DE CAFE CEREZA
DIAGRAMA 2	USOS POTENCIALES DE LA PULPA DE CAFE
DIAGRAMA 3	PROCESO SUGERIDO PARA LA PRIMERA ALTERNATIVA DE FERMENTACION
DIAGRAMA 4	PROCESO SUGERIDO PARA LA SEGUNDA ALTERNATIVA DE FERMENTACION

LISTA DE PLANOS

PLANO 1	MEDIDAS DEL AGITADOR AIREADOR DE LA PRIMERA ALTERNATIVA DE FERMENTACION
PLANO 2	AGITADOR AIREADOR VISTA DE PLANTA (PRIMERA ALTERNATIVA)
PLANO 3	ACCESORIOS DEL AGITADOR AIREADOR (PRIMERA ALTERNATIVA)
PLANO 4	UNIDAD FERMENTADORA DE LA PRIMERA ALTERNATIVA
PLANO 5	INFRAESTRUCTURA SUGERIDA PARA LAS FACILIDADES DE FERMENTACION

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	CORTE LONGITUDINAL DE UN GRANO DE CAFE CEREZA
FIGURA 2	COLUMNA FERMENTACION A NIVEL DE LABORATORIO.

I. RESUMEN

La disponibilidad de la pulpa de café en Guatemala y América Latina ha originado la realización de una serie de trabajos de investigación, los que se enfocan a definir varios procesos, dependiendo de su posterior utilización. El presente trabajo tiene como finalidad: Diseñar y evaluar un sistema de fermentación sólida de la pulpa de café, empleando el microorganismo **A. niger**, en presencia de fuentes agregadas de nitrógeno y fósforo en cantidades óptimas para obtener un concentrado apto para alimentación animal.

Para la realización del trabajo, éste se dividió en tres etapas.

- Primera etapa: Optimización de los datos a nivel de laboratorio
- Segunda etapa: Diseño, construcción y evaluación del equipo y del proceso de fermentación en planta piloto
- Tercera etapa: Estimación de los costos de producción de la pulpa de café fermentada para consumo animal a nivel agroindustrial.

En la primera etapa se determinó experimentalmente el nivel óptimo a agregar de urea, K_2HPO_4 y $(NH_4)_2SO_4$; en base al crecimiento del microorganismo **A. niger** en la pulpa de café (parámetro que define el aumento de la proteína por biomasa); y a la posible degradación de sustancias antinutricionales como: la cafeína, los polifenoles y la fibra cruda. Mediante el uso del fermentador desarrollado por Raimbault y Alazard (46), y columnas con 10 g de material seco, con 80% de humedad, a pH inicial de 3.5; con flujo de aire saturado a razón de 8 lt/min/kg de material seco y un inóculo de 2.7×10^7 esporas/g de material seco a 35ºC. Se llegó a la conclusión que las sales necesarias para la fermentación son urea y K_2HPO_4 en las concentraciones de 2.5 y 2.0 g de cada sal, respectivamente, por 100 g de pulpa seca. Se observó que la pulpa fermentada con esta metodología aumenta su contenido de aminoácidos totales y disminuye los contenidos de fibra cruda y de taninos, mientras que la cafeína se comporta en forma incierta.

En la segunda parte del trabajo se desarrolló la tecnología apropiada para realizar la fermentación sólida de la pulpa de café con el microorganismo **A. niger** y el agregado de las sales encontradas en la primera etapa, tomando en cuenta las variables de: temperatura, aireación, pH y humedad del sustrato, llegándose

a diseñar y construir el equipo de fermentación a nivel planta piloto, con capacidad de 100 kg de pulpa de café al 80% de humedad y sus respectivos controles de temperatura, humedad pH y aireación.

La operación y evaluación del equipo diseñado se realizó con dos lotes de 100 kg de pulpa de café al 80% de humedad. La eficiencia se calculó con base en la conversión de aminoácidos totales, fibra cruda, cafeína y polifenoles de la pulpa. Se obtuvo una eficiencia de conversión de 65%, la que podría mejorarse al optimizar las variables que interfieren en el proceso de fermentación.

En la tercera etapa se presenta el análisis económico para la industrialización del proceso. Se estima con los costos fijos totales y los costos de producción por año (costo por kg de producto). Se presentan dos alternativas, la primera es la extrapolación de los datos con base en el diseño presentado, teniéndose que el costo por kg de producto, y la ganancia neta obtenida es de Q0.68 y Q0.07 respectivamente. La segunda alternativa tiene la modificación del equipo para la fermentación, la cual se realiza en bandejas; siendo el costo total del producto, y la ganancia neta por kg de producto de: Q0.58 y Q0.12, respectivamente. El costo por kg de producto es menor en la segunda alternativa y, además, reporta la mayor ganancia neta por kg de producto.

II. INTRODUCCION

En la región de América Latina, durante muchos años la producción de café ha sido una de las más importantes económicamente y, en Guatemala, es la base de la economía nacional. En el Cuadro 1 puede observarse la producción de café durante la década de 1974-1984, notándose el aumento prómedio de la producción (4).

Sin embargo, la tecnología usada para su proceso ha cambiado muy poco, y el aprovechamiento de los subproductos es prácticamente nulo, usándose únicamente como abono orgánico, y en la mayoría de casos se desecha en los ríos, creándose problemas de contaminación ambiental.

Para aprovechar al máximo los subproductos del café se han realizado varios estudios, entre ellos, se ha evaluado la utilización de la pulpa de café en la alimentación animal, encontrándose que la pulpa tiene sustancias antinutricionales para los animales que provocan disminución tanto del crecimiento como de la ganancia de peso en los mismos (10, 28).

Las sustancias antinutricionales encontradas en la pulpa pueden reducirse considerablemente por medio de su fermentación usando el microorganismo **A. niger**, pero la preparación de la pulpa como sustrato requiere de sales inorgánicas, sustancias que aumentan el precio del producto (1, 25).

El objetivo de este trabajo fue reducir al máximo el uso de las sales mencionadas en la preparación del sustrato, obteniendo siempre un producto de buena calidad nutricional, y desprovisto de sustancias antinutricionales, adecuado para la alimentación de animales monogástricos.

Además, se pretende realizar el estudio y diseño del equipo de fermentación, que provea las condiciones óptimas obtenidas en el laboratorio para la fermentación de la pulpa de café con el moho **A. niger** a nivel de planta piloto.

III. REVISION DE LITERATURA

1. Aspectos Generales.

En Centroamérica y especialmente en Guatemala, la producción del café beneficia grandemente al país en su economía nacional. Durante muchos años se han realizado trabajos de extensión sobre el cultivo del café con la finalidad de mejorar los procesos de producción; sin embargo, los métodos han cambiado muy poco desde su inicio (31).

La especie de café cultivada en Guatemala es **C.arábica** en sus variedades, Typica y Burbon, y una mezcla de ambas derivada por hibridación, siendo estas variedades de café de muy buena calidad (9, 31).

Al revisar un grano de café cereza, en un corte longitudinal, como se observa en la Fig. 1, se encuentra que la parte externa de la pulpa forma una capa esponjosa, seguida de otra intermedia llamada mucílago, que cubre la cascarilla, la cual contiene el grano de café.

En la región de Guatemala y América Central, el café cereza se cosecha durante el período de agosto a marzo; el amplio período se debe a la maduración heterogénea del fruto, debiéndose a varios factores, entre los cuales se tiene: la especie de café, el clima y la altitud del terreno, las técnicas de cultivo, etc. La cosecha se realiza cuando el café presenta el color marrón obscuro. Cuando el fruto es cortado de las plantas, se lleva a los beneficios, lugar donde se procesa.

El método para procesar el café en Guatemala, es el método húmedo (9, 11, 42), el cual consiste en: lavado del café, para quitarle la tierra y los frutos en mal estado luego, el café se despulpa, operación que separa la pulpa del grano; el grano queda con una cubierta mucilaginosa, la cascarilla y el café propiamente luego, el café se fermenta por un tiempo de 48 a 72 horas para quitarle la capa mucilaginosa o también se trata químicamente. Seguidamente, el café se lava y se deja secar para luego quitarle la cascarilla. La pulpa se desecha en los ríos o se vierte como abono orgánico en las mismas plantaciones. El proceso descrito se observa en el Diagrama 1 (8).

Los análisis de balance de materiales indican que la pulpa representa aproximadamente el 29% del fruto de café en base seca (9). En el Cuadro 2 se presen-

ta la distribución porcentual del fruto de café cereza de las tres variedades cultivadas en Guatemala.

2. Composición Química de la Pulpa de Café.

Debido a las futuras perspectivas industriales que presenta la pulpa de café, como alimento animal, se ha analizado su composición química en los estados de: pulpa fresca, deshidratada y fermentada (9,12). Un resumen de los resultados se presenta en el Cuadro 3. Como puede apreciarse, el material contiene un alto porcentaje de humedad, factor problemático que afecta grandemente el proceso de utilización de la pulpa. Cuando la humedad se elimina por cualquiera de los métodos evaluados, la composición química permanece similar, lo cual es indicativo que después de separada del grano, se puede optar por diversos procesos de secado. Es importante indicar que la composición química de la pulpa puede variar según la variedad del café, las técnicas de cultivo, el clima, y ' altitud del terreno (20).

En la formulación dietética de los animales es importante estudiar los factores adversos del producto. Se ha encontrado que compuestos orgánicos son los responsables de la toxicidad encontrada en la pulpa de café. En el Cuadro 4 se indican los compuestos orgánicos encontrados (9), destacándose el contenido de taninos, cafeína, ácido clorogénico y ácido caféico, sustancias que han sido reportadas como las responsables de la toxicidad del material (12, 36).

En el Cuadro 5 se presenta el contenido de minerales en la fracción de cenizas de la pulpa de café (12), siendo de importancia el alto contenido de potasio y calcio.

En el Cuadro 6 se presenta el contenido de aminoácidos esenciales y no esenciales de la pulpa de café, el maíz, la soya, la semilla de algodón y la harina de pescado. Se observa que todos los aminoácidos existentes en la pulpa se encuentran en cantidades comparables a la de los alimentos tradicionales (12).

Bressani y col. (12), indican que la pulpa de café contiene cantidades de proteína comparables a otros alimentos, aún cuando su contenido de fibra es mayor y su extracto libre de nitrógeno es menor. Por otro lado, indican que la cafeína y los polifenoles son los responsables de la toxicidad observada en los animales que la consumen (12).

Entre los minerales, el potasio se encuentra en alta cantidad, siendo posiblemente otro factor tóxico en la alimentación animal. En cuanto al hierro y calcio, éstos se encuentran en cantidades adecuadas. Los aminoácidos esenciales de la pulpa de café se encuentran en cantidades similares, y aún mejores a la de otras fuentes como harina de soya o algodón, como se observa en el Cuadro 6.

3. Estudios y Usos Potenciales de la Pulpa de Café.

El despulpado del café se realiza en los beneficios, lugar factible donde también podrían aprovecharse los subproductos para un uso industrial apropiado, teniéndose la ventaja del amplio período de cosecha. Con este fin, puede instalarse maquinaria pequeña y económicamente rentable, tomándose en cuenta el volumen de materia prima disponible para procesar en el diseño del equipo apropiado para un determinado período de tiempo.

En el Diagrama 2 se encuentran los posibles usos de la pulpa, siendo los más investigados la extracción de la cafeína, la producción de gas, y la fermentación para alimento animal, desarrollándose en cada caso, métodos y tecnologías apropiadas (9).

3.1 Ensilaje de la pulpa de café: La producción de café en Guatemala es estacional, entonces, para su aprovechamiento en la alimentación animal, se necesita conservarla y a la vez mejorar su calidad nutricional. Para ello se ha estudiado el método de ensilaje, descrito por Bressani y Braham (9), Bohkenford y Fonseca (5). La pulpa como tal, es prensada hasta obtener el 60 ó 65% de humedad, se vacía en los silos construídos para este fin (24) luego, se agrega de 3 a 5% de melaza de caña de azúcar con relación al peso de la pulpa vaciada (9). Jaffe y Ortiz (28), y Bressani y Braham (9), encontraron que la cafeína y los taninos disminuían en la pulpa ensilada, además, que el proceso efectuado con melaza u otros forrajes, mejora su palatabilidad y digestibilidad, lo que aumenta su consumo por los animales, observándose aumento de peso y crecimiento de los mismos.

Los estudios de ensilaje se han realizado con: pulpa fresca, prensada y parcialmente deshidratada; obteniéndose los mejores resultados de ensilaje con la pulpa fresca al término de 72 horas de ensilaje.

3.2 Deshidratación de la pulpa de café: La deshidratación de la pulpa de café es otra alternativa de conservación, para ser utilizada como alimento animal. Estudios realizados por Molina y col (35), indican que la pulpa se deshidrata fácil-

mente. Molina y Avendaño (34), encontraron que el mejor método de secado de la pulpa es cuando se usa el secador rotatorio, el que presenta el menor costo por quintal de pulpa seca con pocas posibilidades de contaminación, se realiza en corto tiempo, y requiere de una menor área de secado. Los resultados biológicos indican que las sustancias tóxicas no disminuyen con el secado, los animales consumen la pulpa en porcentajes pequeños o no la consumen del todo.

3.3 Extracción de la cafeína: La cafeína es un alcaloide, con amplio uso en la industria farmaceútica, su precio es relativamente alto y la disponibilidad de esta sustancia en la pulpa de café, ha motivado que se estudie ampliamente. Cuevas (19), Molina (36), informan sobre los estudios relacionados sobre la extracción de la cafeína de la pulpa de café, indicando que los mejores resultados de extracción de este alcaloide se han obtenido por el método de percolación, donde se ha extraído el 99% de cafeína presente en la pulpa junto con 29% de residuos totales como impurezas.

3.4 Extracción de la proteína: La pulpa de café tiene un alto contenido de proteína y aminoácidos disponibles, como se observa en los Cuadros 3 y 6 pero, la proteína es muy poco utilizada por los animales debido a las sustancias que interfieren en su asimilación. Por esta razón, se ha pensado en extraer la proteína de la pulpa. Bressani y Braham (9), citan que se ha logrado extraer considerables concentraciones de nitrógeno disponible de la pulpa pero, se tiene el inconveniente de su recuperación, la que se logra en pequeñas cantidades. Se considera que los taninos (polifenoles) interfieren en la extracción de la proteína, porque forman complejos. Los polifenoles cuando se oxidan a quinonas son agentes oxidantes poderosos, y son capaces de actuar sobre los grupos funcionales de la proteína, también pueden dimerizarse formando enlaces covalentes con la proteína, evitando de esta forma, su extracción de la pulpa de café. Actualmente se estudia el proceso de bloquear la oxidación y los efectos negativos de los taninos en la extracción de la proteína en la pulpa de café (21).

3.5 Crecimiento de microorganismos: Los primeros estudios sobre la utilización de la pulpa de café en la producción de levaduras se realizaron en Colombia. Se informó que a nivel de planta piloto se obtuvo 700 g de levadura seca por 100 kg de café (9), la levadura contenía aproximadamente 45% de proteína; el microorganismo utilizado fue **Totulopsis utilis.** Estudios en Costa Rica y Guatemala (INCAP, ICAITI), sin embargo, señalan que al usar los microorganismos **A. ori-**

zae, B. megatheriun y **S. cerevisae,** se obtuvieron buenos resultados, obteniéndose un producto con 45% de proteína aproximadamente (9).

3.6 Fertilizante orgánico: En años pasados, y aún en la actualidad, la pulpa de café se desecha en los ríos, o bien se usa como abono en las mismas plantaciones, sin usar técnicas adecuadas. Por dichos motivos se presentan problemas de contaminación ambiental, y problemas de manipuleo de la pulpa por su alto contenido de humedad. Sin embargo, considerando su uso eventual como fertilizante se informa que 100 kg de pulpa seca son equivalentes a la composición química de 5 kg de fertilizante inorgánico con la formulación 14-3-37 o equivalente a 10 kg de aquél con la fórmula 7-1.5-18.5 (nitrógeno-fósforo-potasio). Se puede apreciar su alto contenido de potasio. Estos datos fueron compilados por Bressani y Braham (9).

3.7 Producción de biogas: Los desperdicios agrícolas como la pulpa de café, usada junto a excremento humano o animal, pueden fermentarse anaeróbicamente a las condiciones de: 25-30ºC en un medio levemente alcalino. Esta producción de gas la realiza una variada población de microorganismos.

El gas obtenido es una mezcla de: hidrógeno bióxido de carbono, gases inertes y metano. Del Total de gas producido el metano constituye la mayor parte (60-65%). Las características del gas son: es poco explosivo, de alto poder calorífico y no tóxico (18).

Calle (18), recomienda la construcción de plantas fermentadoras de metal, por ser bastante eficientes al ser comparadas con las construidas con otro tipo de material. Los rendimientos de las plantas fermentadoras son proporcionales a la frecuencia de carga y a la temperatura del sustrato; el autor recomienda que la planta sea cargada cada 40 días, y que la temperatura del medio sea en promedio de 25ºC.

3.8 Pulpa de café en alimentación animal: Los estudios sobre el uso de la pulpa de café en alimentación animal han sido numerosos, especialmente usando animales rumiantes. Bressani (9), indica que los rumiantes reusan el consumo de la pulpa por su baja palatabilidad, causada por la presencia de cafeína y polifenoles, pero cuando el material se mezcla con otros forrajes mejora su palatabilidad y aumenta el consumo voluntario de los mismos.

Los datos sobre la digestibilidad de la pulpa de café en los animales son diversos, y esto se atribuye a que los estudios se realizaron en lugares distintos, donde posiblemente las técnicas de cultivo, la especie de café, los métodos de procesamiento del café, la raza de los animales usados en el estudio no eran las mismas. Sin embargo, Cabezas y col. (16), indican que el aumento de consumo de la pulpa por los animales rumiantes disminuye la digestibilidad de la proteína disponible, debido a la existencia de sustancias adversas que se encuentran en la pulpa.

Para conservar la pulpa destinada al consumo animal, se han estudiado diversos métodos, como secado, dando origen a la pulpa de café deshidratada (PCD) y ensilada originando el ensilaje de la pulpa de café (EPCD). De estos métodos estudiados se han obtenido mejores rendimientos en los animales cuando consumen ensilaje de pulpa de café (EPCD) (3, 38).

Los análisis realizados en el INCAP usando pulpa de café deshidratada y ensilaje de pulpa de café, revelan que el ensilaje tiene una mejor palatabilidad, con menor cantidad de sustancias tóxicas, reflejándose esto en un mejor aprovechamiento de la proteína por los animales, y en una mejor digestibilidad del material, lo que produce una mayor ganancia de peso y mayor crecimiento de los animales que consumen PECD que los que consumen PCD (9, 16). Cabezas y col. (15), analizaron la utilización del nitrógeno disponible de la pulpa de café en la alimentación de rumiantes. Los autores concluyeron que el aumento en el nivel de pulpa deshidratada en las raciones disminuye significativamente la cantidad de nitrógeno ingerido, absorvido y retenido.

Los autores también informan que el aumento de la PCD en la ración causa diuresis, aumento en la actividad fisiológica, que a la vez provoca un aumento del volumen de la orina excretada por día, factor que causa que la cantidad de nitrógeno excretado sea aún mayor.

Los estudios realizados para determinar si algunos parámetros del suero sanguíneo de animales rumiantes, sufren alguna alteración al ser alimentados con pulpa de café, indican que la concentración de glucosa, proteína, albúmina, nitrógeno de urea, calcio, fósforo y ácido oxaloacético y glutámico-pirúvico, en terneros alimentados con y sin pulpa de café, no sufrió diferencia alguna. Sin embargo, la concentración de ácidos grasos libres del suero sanguíneo sufrió un aumento significativo en los animales que consumen raciones conteniendo pulpa de café,

cuando se compara a los que no la consumen (9, 19).

Los factores antinutricionales de la pulpa de café no se conocen, pero se atribuyen a la presencia de cafeína, taninos o polifenoles y a su alto contenido de fibra no digerible. Cabezas y col. (16) administraron cafeína en concentraciones de 0.12%, cantidad contenida en las raciones de pulpa de café deshidratada, y observaron una disminución en el crecimiento de terneros. También administraron ácido tánico en concentraciones de 0.75 a 1.5%, que corresponde a la concentración encontrada en las raciones conteniendo pulpa de café deshidratada, pero en este caso, no observaron efecto alguno en el crecimiento de los terneros. Sin embargo, cuando se administraron la cafeína y el ácido tánico juntos en las mismas concentraciones, la disminución de crecimiento y ganancia de peso fue mucho más severo que cuando las sustancias se administraron en forma independiente. También observaron los autores que cuando las concentraciones aumentaban, los efectos se hacían mucho más graves, presentando los animales convulsiones, hemorragias y otros síntomas (16). Los estudios descritos indican que la cafeína y los taninos presentes en la pulpa de café son los factores condicionantes de su uso en la alimentación animal (6, 37).

La cafeína es la sustancia que aparentemente causa más daño al animal cuando se usa pulpa de café en la ración, por ser la responsable de la baja palatabilidad de la pulpa, la baja absorción de la proteína y la baja retención de nitrógeno, causado por su efecto diurético indicado por varios autores (9).

En estudios realizados sobre alimentación de cerdos con pulpa de café (9), se encontró que el porcentaje máximo de pulpa en la ración para que la consuman los cerdos es de 12 a 16%. En estas proporciones no se presentan efectos negativos en el rendimiento del animal al compararlo con los resultados obtenidos en cerdos alimentados con otro tipo de material. En los estudios de suero sanguíneo realizados en cerdos, se obtuvieron resultados similares a los obtenidos con rumiantes (9).

La pulpa de café en ración para pollos en crecimiento es aceptable hasta 8%. Estos animales tienen el inconveniente de no digerir la celulosa, sustancia que constituye un alto porcentaje de la fibra cruda (Cuadro 3). Cuando se aumenta el porcentaje de la pulpa de café de 0 a 10% en las raciones para pollos, se observa una disminución del crecimiento y menor ganancia de peso. Cuando se pasa del 10% se observa mortalidad de los pollos en poco tiempo (5, 9, 13).

Bressani y Braham (9), citan la evaluación del posible uso de la pulpa de café en raciones para pollos, adicionando 1 y 2% de metabisulfito de sodio a la pulpa. Los resultados indicaron que la alimentación de pollos con pulpa tratada con metabisulfito de sodio al 1% y pulpa de café, sin tratamiento, disminuían tanto el crecimiento como la ganancia de peso en forma similar. La adición de metabisulfito de sodio al 2% aparentemente mejora un poco la calidad nutricional de la pulpa, observándose un mejor rendimiento de los animales, en ganancia de peso y crecimiento.

4. Factores Antifisiológicos de la Pulpa de Café.

Las sustancias que son directamente responsables de los efectos observados en los animales alimentados con raciones conteniendo pulpa de café no se conocen aún. Al analizar, con base en los resultados químicos de la pulpa de café, y de los efectos observados de las pruebas realizadas con ratas, pollos, cerdos y rumiantes, se concluye que las sustancias posiblemente responsables son: la cafeína, los taninos o polifenoles, el potasio y el alto contenido de fibra cruda no digerible del material. Todas estas sustancias, individuales o en conjunto, tienen efectos que provocan la baja digestibilidad y metabolismo de los nutrientes presentes en la pulpa. A estas sustancias se les ha denominado "Sustancias adversas" (9).

4.1 Cafeína: Es un alcaloide conocido como 1-3-7 trimetil xantina, tiene acción sobre el sistema nervioso central (12, 31), actúa también sobre los riñones produciendo diuresis, estimula el músculo cardíaco, tiene acciones ulcerogénicas, e incrementa el metabolismo basal al poco tiempo de ser ingerido; en dosis altas produce convulsiones, hemorragias y en algunos casos llega hasta la muerte, causada por fallo del sistema respiratorio (19).

Cabezas y col. (16) informan que al aumentar la cantidad de cafeína en la alimentación animal, con raciones conteniendo más del 20% de pulpa de café, se produce una marcada disminución del crecimiento y ganancia de peso (9). Al analizar el aumento de los ácidos grasos libres observados en terneros, éste se le ha atribuido a la acción lipolítica de la cafeína de la pulpa (9). Los resultados indican que la cafeína incorporada a niveles de 0.05 a 0.1% en raciones para gallinas ponedoras y gallos, inhibe la función reproductora. Así también, en las ratas, además de disminuir su crecimiento y ganancia de peso, también inhibe su función reproductora (9).

Estudios recientes (1, 25, 42), indican que la cafeína presente en la pulpa puede ser disminuida por fermentación usando el microorganismo **A. niger.** Además esta fermentación mejora la calidad química nutricional de la pulpa, porque aumenta el contenido de proteína y aminoácidos esenciales.

Investigando otras formas de eliminar la cafeína de la pulpa, se encontró que el mejor método de decafeinización es el de percolación usando agua hirviente como solvente (19, 36).

4.2 Taninos: Son formas derivadas de los polifenoles, su administración causa irritación por acción astringente, siendo causa de diarrea. Los taninos en presencia de proteína, forman complejos, evitando su extracción y su asimilación por los animales (52). Cabezas y col. (16), encontraron que el ácido tánico no causa efectos negativos en los rumiantes, pero cuando se encuentra en presencia de cafeína, produce efectos severos (16).

Bressani y Braham (9), encontraron que el ácido tánico reduce la energía metabólica y la retención de nitrógeno en pollos y disminuye su crecimiento al incluirlo en la dieta al 0.5%. Cuando se incluye al 5% causa la muerte del 70% de la población en los primeros días de consumo (19).

Cuevas (19), indica que los taninos disminuyen el crecimiento de las ratas en todos los niveles de consumo, produciéndoles la muerte al consumirlos en altos porcentajes.

De Rozo (21, 56), dirigió estudios sobre el efecto de los polifenoles en la absorción del hierro en los animales, y concluyó que la cantidad de polifenoles existentes en la pulpa es suficiente para disminuir la concentración de hierro fisiológicamente activa. También analizó la interacción de los polifenoles con la proteína, y observó que los de mayor peso se ligan más fácilmente que los polifenoles de menor peso molecular.

4.3 Potasio: Es un mineral con peso molecular de 39.102 ; en el organismo animal actúa como un electrólito, que regula la osmósis (52). La pulpa de café contiene niveles altos de potasio (Cuadro 5), su efecto que tiene al usar la pulpa de café como alimento animal, no es conocido (8), pero en otros estudios se conoce que con niveles altos de iones potasio inhibe los cofactores enzimáticos de algunas proteínas (32), además de afectar negativa o positivamente el equilibrio osmótico.

117

4.4 Fibra cruda: Son carbohidratos de cadena larga, esencialmente está formado de celulosa, lignina y hemicelulosa, sustancias que son poco digeribles por el metabolismo de los animales, resumiéndose en digestibilidad baja del material orgánico de la pulpa de café (8). En el Cuadro 4 se observa el contenido promedio de fibra cruda de la pulpa de café.

Las sustancias descritas individual o sinérgicamente son a las que se les atribuye la responsabilidad de los efectos adversos encontrados en la alimentación animal.

5. Métodos Analizados para Mejorar y Conservar la Calidad Química-Biológica de la Pulpa de Café.

La utilización de la pulpa de café en la alimentación animal se investiga por ser una buena opción como sustituto de otros forrajes. Existen 3 métodos posibles de conservación, estudiándose desde el punto de vista físico-químico y biológico.

5.1 Método físico: Este método consiste en reducir al máximo el contenido de agua existente en la pulpa de café (Cuadro 3). Molina y col. (35), analizaron la calidad química y biológica de la pulpa seca, observándose que al reducir el contenido de agua de la pulpa, por secado, no se obtienen mayores cambios en su composición química, comprobándose que las sustancias adversas a la alimentación animal persisten después del secado.

Debido a lo anterior este método físico no se cree que mejore la calidad de la pulpa de café, aunque no deja de ser una opción viable para su conservación.

5.2 Método biológico: Se refiere al proceso de fermentación anaeróbica o aeróbica, usando un sustrato sólido. Su más corriente aplicación a la pulpa de café ha sido en forma de ensilaje, proceso al cual se le ha dado mucha importancia. Bressani y Braham (9), presentan un análisis de los estudios sobre ensilaje, realizados e indican que, los silos de fosa dieron los mejores resultados. Agregando un porcentaje de melaza de caña de azúcar a la pulpa, mejora la calidad nutricional y la palatabilidad del forraje, permitiendo estimular la fermentación rápidamente. Los autores informan de estudios que señalan que el ensilaje por este método, reduce la cantidad de cafeína y taninos (9).

115

Se han estudiado varios tipos de microorganismos, ideales para la fermentación sólida aeróbica de la pulpa de café. Calderón (17), indica que la levadura **Sacchromyces sp.** reduce la cafeína de la pulpa. Estos estudios se realizaron fermentando la pulpa en forma de compost, obteniéndose al final un producto con alto contenido de proteína disponible.

Bressani y Braham (9), informan de estudios realizados en la pulpa de café, usando el microorganismo **Candida utilis,** obteniendo en planta piloto rendimientos considerables de hasta 750 g de levadura seca por 100 kg de fruto de café, con alrededor de 45% de proteína; datos similares fueron obtenidos en Colombia y Costa Rica (9).

Estudios realizados por Peñaloza (41) sobre fermentación sólida aeróbica de la pulpa de café usando los mohos: **A. niger, P. crustosum** y **T. harzianum,** revelan que el moho **A. niger** presenta el mejor comportamiento, brindando un producto con un alto porcentaje de proteína disponible.

La fermentación en medio sólido también ha sido de mucha importancia para la producción de alimentos de consumo humano, usándose en una amplia variedad de procesos, como por ejemplo, la maduración de los quesos, la elaboración de la salsa de soya, la elaboración del koji y el tempeh en el Medio Oriente, así como para mejorar la calidad nutritiva de la yuca (46).

Raimbault (46), concluye que la fermentación sólida tiene ventajas sobre la fermentación líquida, radicándose en el menor contenido de agua del sustrato sólido. Entre las principales ventajas se tienen:

- Ocupa menor espacio, requiriéndose de equipo menos complicado
- Por su menor contenido de agua, el costo de concentración del producto final es más económico
- Por su poco contenido de agua, los riesgos de contaminación son mínimos
- La preparación del medio es simple, utilizando granos, tubérculos y frutos

Entre las desventajas de la fermentación sólida se tienen:

- La baja disponibilidad de agua únicamente permite el desarrollo de mohos, restringiendo el uso de bacterias
- La fermentación sólida a gran escala presenta problemas de controles
- La agitación es un problema, porque se requiere de mucha potencia en medios sólidos

- Por ser un campo de estudio reciente, se cuenta con poca fuente de información.

Por su agitación, las fermentaciones en medio sólido se clasifican en: estáticas y con agitación.

5.2.1 Fermentación sólida estática: Este tipo de proceso se ha usado en la fermentación de productos alimenticios. En el Medio Oriente se realiza la inoculación del microorganismo al medio sólido, dejándose después en reposo, el tiempo necesario (42).

5.2.2 Fermentación sólida con agitación: La agitación contínua de la materia fermentándose con este sistema es importante, porque con ello se consigue el control homogéneo de la temperatura pH, humedad y se facilita el intercambio gaseoso. Este método tiene amplio uso en la industria alimenticia de fermentación líquida, pero es limitada en la fermentación sólida porque constituye un alto costo de energía el realizar la agitación (42).

6. Características del Aspergillus niger.

Considerando los buenos rendimientos que se han obtenido en la fermentación sólida de la pulpa de café con el moho **A. niger**, es necesario conocer sus características principales: El **A. niger** se clasifica como homgo verdadero, división Mycota, subdivisión Eumycotina, clase Deuteromycetes. (41).

La forma de reproducción conocida del **A. niger** es asexual, en forma de conídias, llevándose a cabo sobre la parte superior del esterigma, apollada por la vesícula del conifióforo de la célula basal.

Sus características morfológicas se basan en su tipo y disposición de las conidias, es por ello que su cultivo no es satisfactorio en medios líquidos; por lo que debe favorecerse las condiciones de temperatura, pH, humedad, aireación y los nutrientes disponibles en el medio sólido para que puedan desarrollarse satisfactoriamente.

En general, los mohos pueden sobrevivir en condiciones severas; según Pelczar (41), soportan concentraciones pequeñas de azúcares, tienen un pH entre 2 y 9, aunque el óptimo es de 5.6, los mohos necesitan un nivel de humedad de 60 a 70% pero pueden existir en medios con niveles menores, porque pueden tomar el agua necesaria de la atmósfera. Son microorganismos aeróbicos por excelencia

y soportan un amplio intervalo de temperatura, pero la temperatura ideal es de 35-37ºC (41).

El **A. niger** como todos los mohos necesitan obtener los nutrientes de algún medio apropiado, aunque la capacidad de sintetizar algunos nutrientes es específica en cada uno. Sin embargo, todos necesitan de: agua, fuentes de carbono, nitrógeno y algunos micronutrientes, así como de oxígeno.

IV. JUSTIFICACIONES

El café es el principal producto agrícola de Guatemala, como se observa en los datos de producción presentados en el Cuadro 1. La composición del grano de café indica que la pulpa constituye el 29% (Cuadro 2). Al observar los Cuadros 3-6 se concluye que la pulpa es un material al cual puede dársele diversos usos, como se muestra en el Diagrama 2; sin embargo, estos posibles usos en Guatemala están todavía en fase experimental de laboratorio. Entre los anteriores estudios destaca el posible uso de la pulpa como alimento animal (9).

Los análisis realizados por algunos autores (1, 42) indican, que en el proceso que podría ser factible la utilización de la pulpa como alimento animal está la fermentación sólida, usando el microorganismo **A. niger.** Este microorganismo se caracteriza por ser bastante celulósico, resistente a severas condiciones del medio y que degrada en parte la cafeína y los polifenoles, reduciéndolos notablemente.

Dado que los resultados de los procesos de fermentación se han obtenido solamente a nivel de laboratorio, es evidente la necesidad que existe de extrapolar los resultados de laboratorio hasta ahora obtenidos, diseñar el equipo de fermentación a nivel planta piloto, y evaluar el proceso de fermentación para obtener un producto económico, de buena calidad nutricional mediante una tecnología apropiada para su funcionamiento en el medio guatemalteco.

V. OBJETIVOS

1. Generales:

Optimizar los resultados de laboratorio hasta ahora obtenidos en la fermentación sólida aeróbica de la pulpa de café usando **A. niger** para su uso en alimentación animal, y desarrollar la tecnología adecuada para su funcionamiento a nivel piloto.

2. Específicos:

2.1 Determinar las concentraciones mínimas de urea, sulfato de amonio y fosfato monoácido de potasio a agregar a la pulpa de café, para obtener un producto similar al conseguido con las concentraciones estándar usadas hasta ahora.

2.2 Diseñar y evaluar la unidad de fermentación sólida para pulpa de café a nivel piloto con base en las condiciones óptimas de fermentación determinadas en el laboratorio.

2.3 Determinar los costos de producción de un material fermentado de buena calidad nutricional, producido a escala agroindustrial, y destinado para la alimentación de pollos o cerdos.

VI. HIPOTESIS

1. Es posible disminuir la concentración de sales agregadas al medio de fermentación de las concentraciones estándar agregadas al sustrato, sin que cambie la calidad físico-química y nutricional de la pulpa fermentada.

2. Es posible diseñar un equipo de fermentación sólida aeróbica que reuna todas las características necesarias, usando sistemas de tecnología apropiada, y asegurando su buen funcionamiento a nivel piloto agro-industrial.

VII. MATERIALES Y METODOS

1. Generalidades

La selección de las condiciones óptimas de fermentación de la pulpa de café se efectuó con base en la cinética de fermentación realizada por Peñaloza (42) para el moho **A. niger.**

Como fermentador a nivel de laboratorio se usaron las columnas con el arreglo dado por Raimbault (46), similar al usado por otros autores (1, 25, 42) en fermentación sólida de la pulpa de café (Figura 2). El material fermentado se produjo en cantidad suficiente para poder realizar las determinaciones de la composición química. El estudio experimental se realizó en 3 etapas.

1.1 Primera etapa.

1.1.1 Objetivo.

Determinar la cantidad mínima de sales a agregar para efectuar la fermentación y obtener un producto que químicamente tenga el menor contenido de sustancias antinutricionales conocidas y el mayor contenido de proteína verdadera a nivel de laboratorio.

1.1.2 Materiales y equipo.

- Pulpa de café: se usó pulpa de café, obtenida del municipio de Amatitlán Guatemala, siendo la cosecha del año 1980. Esta fue secada al sol hasta obtener un contenido de humedad promedio de 10%, luego se realizó la molienda con un molino de martillo de 1/4 hp, usando el tamiz No. 20.

- Sustancias químicas: se usaron para preparar el sustrato, sulfato de amonio, urea, fosfato monoácido de potasio, grado reactivo.

- Microorganismo: se inoculó el sustrato con el moho **A. niger** (cepa No. 10 de la Oficina de Investigación Científica y Técnica de Ultramar ORSTOM, París, Francia).

- Fermentador: se usaron las columnas con el arreglo a nivel laboratorio diseñado por Raimbault (46).

1.1.3 Métodos:

- Composición del medio sólido: A cada 100 g de pulpa seca, se le añadió fosfato monoácido de potasio, sulfato de amonio y urea en diferentes cantidades, desde cero hasta las concentraciones estándar dadas por Peñaloza (42). Las sales

se disolvieron en las cantidades de agua calculadas para obtener 80% de humedad en la pulpa seca. Luego se ajustó el pH a 3.5 con ácido clorhídrico y se homogenizó el sustrato.

- Mantenimiento de cepas: Para el mantenimiento de cepas y producción de esporas se usó agar papa (PDA). La incubación se efectuó a 35ºC durante el tiempo necesario para alcanzar una buena esporulación (4 - 5 días).

La suspensión de esporas para la inoculación del medio se preparó según la metodología de Mudget y Bajrachaya (39), y se almacenó a 4ºC hasta su uso en el experimento.

- Método de fermentación: 10 g del medio preparado se empacaron en cada columna del fermentador. El flujo de aire saturado con agua se controló a 8 lt/min /kg de materia seca. Este flujo se calibró para obtenerlo con ventilador tipo Eliote 802. La temperatura se controló colocando las columnas con el medio inoculado en un baño de agua con agitación forzada a temperatura de 35ºC. Esta temperatura equivale a la recomendada por Peñaloza (42). El tiempo de fermentación fue de 48 hr basado en los datos obtenidos de la cinética de fermentación realizada por Peñaloza (42). El pH inicial fue de 3.5 como se señaló antes.

1.1.4 Variables del experimento:

Las variables evaluadas fueron las diferentes concentraciones de sales, las cuales se presentan en el Cuadro 7.

1.1.5 Análisis físico-químico:

Estos análisis se realizaron a la pulpa antes y después de fermentada, con el objeto de verificar el cambio producido durante el proceso, así como el efecto de las diferentes cantidades de sales agregadas. Los análisis fueron:

- Verificación del pH y control de temperatura.
- Determinación de la composición química proximal de la pulpa de café, por los métodos de la AOAC (2).
- Determinación del contenido de cafeína por el método de Ishler y col. (27).
- Determinación del contenido de taninos (45).
- Determinación de aminoácidos totales (39).

1.2 Segunda etapa:

1.2.1 Objetivo:

Diseñar y construir el equipo de fermentación a nivel piloto con las condiciones ideales obtenidas en el laboratorio.

1.2.2 Materiales disponibles.

Se encuentra disponible para el diseño una marmita de doble camisa, con capacidad de 120 lt modelo 1972 de la Lee Metal Products Co., NATL BD No. 40A de la serie No A. 1482.

1.2.3 Equipo a diseñar:

- Equipo de agitación
- Equipo de aireación
- Equipo de abastecimiento de agua para la camisa y agua depurada aceptada para el medio.

1.2.4 Métodos de diseño:

- Diseños preliminares o estimaciones rápidas
- Diseño con estimaciones detalladas
- Diseños definitivos del proceso
- Construcción del diseño definitivo

1.3 Tercera parte.

1.3.1 Objetivo:

Evaluar el diseño piloto de fermentación sólida de la pulpa de café, diseñado con las condiciones óptimas de laboratorio y las concentraciones de sales mínimas para máximas respuestas obtenidas en la primera etapa.

1.3.2 Materiales y métodos:

Se utilizaron los métodos descritos en la primera etapa y las condiciones óptimas identificadas a nivel de laboratorio.

1.3.3 Equipo:

El equipo utilizado fue el diseñado en la segunda etapa, el cual se instaló en la planta piloto del INCAP.

1.4 Análisis de datos:

Para analizar los datos se hizo uso de las técnicas: "t" de Student y análisis de varianza, aplicando regresión y correlación lineal (51).

SEGUNDA PARTE

DESARROLLO DE TECNOLOGIA.

Para el diseño del equipo de fermentación sólida de la pulpa de café, a nivel de planta piloto, se trató de aprovechar todo el equipo ya existente y disponible, para adecuarlo a los fines de operación. El diseño también se basó en los resultados obtenidos en laboratorio como: temperatura de fermentación 35ºC, pH inicial 3.5, flujo de aire 8lt/min/kg de materia seca, humedad inicial 80%, y el agregado de las respectivas cantidades de sulfato de amonio, urea y fosfato dibásico de potasio. Para simplificar el diseño del equipo se analizó en las siguientes partes:

1. Diseño de la marmita o envoltura.
2. Diseño del agitador y potencia del motor.
3. Diseño de los controles de pH, humedad y temperatura.
4. Diseño de abastecimiento de agua.

1. Diseño de la marmita o envoltura.

Se dispone de una marmita enchaquetada de acero inoxidable con medidas de equipo a nivel piloto, de marca Lee Metal Products Co. Natl Bd No. 30 A serie A 1482 del año de 1972. Esta está construida de metal apropiado para los fines de uso, y provista de chaqueta para calentamiento. La marmita tiene capacidad de 0.15 m^3. En base a la capacidad de la marmita y la densidad de la pulpa de café húmeda se obtiene el peso por lote.

Densidad de la pulpa 1140 kg/m^3. Volumen útil de la marmita 0.1 m^3 peso pulpa por lote = densidad por volumen

= 114 kg de pulpa como sustrato. (120 kg)

2. Diseño del agitador y potencia del motor.

El equipo de agitación tiene los siguientes objetivos:

1. Mezclar el sustrato homogéneamente.
2. Distribuir homogéneamente la temperatura.
3. Dispersar el aire.

Antes de tomar la decisión del material del agitador se estudiarán las condiciones a las cuales será expuesto.

ESFUERZOS MECANICOS: Debido a la agitación necesaria para obtener lo indicado por los objetivos, el agitador estará expuesto a soportar altas tensiones, esfuerzos y cargas, ya que estará moviendo una sustancia semisólida de alta viscosidad, y con peso de 120 kg por lote (53).

CORROSION QUIMICA: Tomando en cuenta las sustancias que se agregan para preparar el sustrato y las posibles sustancias que se forman debido a la fermentación, el material de construcción deberá ser inerte químicamente a las sustancias siguientes: fosfato dibásico de potasio, urea, ácido clorhídrico, bióxido y monóxido de carbono, y al oxígeno.

Después del análisis de Perry (43), Striter (54) y Richarson (49), se concluye que los materiales ideales para este tipo de accesorios son, en prioridad decreciente.

1. Acero inoxidable 316
2. Acero inoxidable 301
3. Durichlor 140

2.1 Composición química del acero 316.

Fe; 16-18% Cr; 10-14% Ni; 0.1% max. C; 1.57-2.75% Mo.

El acero se encuentra disponible en forma de: barras, laminado en frío, estirado, laminado en caliente, planchas, barrillas, tubos y alambre.

2.2 Forma del agitador.

La forma del agitador es importante, tanto para que la agitación sea eficiente, como para que el material pueda soportar los esfuerzos, las tensiones y cargas a las cuales será sometido (54, 14).

El agitador diseñado fue de dos anclas, ubicadas a 90º entre si con un soporte en el centro, y dos élices de forma de paleta con inclinación de 45º a la par del soporte. El movimiento del ancla es contraria al de las élices. El ancla tiene raspadores de bisagra intercalados entre cada ala. Los raspadores tienen un cojinete de teflón para evitar el desgaste de la marmita, (véase planos 1, 2 y 3).

2.3 Medidas del agitador. (Ver plano 1).

2.4 Potencia necesaria para el agitador.

Para obtener la potencia necesaria del agitador, Perry (43) plantea una ecuación para la agitación de sustancias altamente viscosas.

$$HP = \& \; L^{4.7} \; n^{2.85} \; d^{0.85} z^{0.15} \qquad (1)$$

Donde HP Potencia del motor necesaria

& Parámetro de función de potencia, que depende de la forma del rodete o impulsor.

n Revoluciones por segundo

d Densidad del material

z Viscosidad del material

L Longitud de la paleta.

El parámetro, función de potencia (&) es diferente para cada tipo y número de paletas (43). Los datos usados para el cálculo de la potencia fueron:

Elice de dos paletas con inclinación 45º	&	=	0.00312
Turbina de cuatro paletas con inclinación de 45º	&	=	0.00408
Paletas planas de cuatro hojas	&	=	0.00720

2.4.1 Potencia necesaria para la élice superior (cálculo de muestra)

Datos:

L	0.45 m.	& 0.00312	
n	0.5 rpm	d 1140 kg/m^3	z 100 kg/m.s.

al sustituir los datos en la ecuación (1) se tiene:

$$HP = 0.0080$$

De igual forma se efectuaron los cálculos para los soportes, de las paletas planas curvadas del ancla. Los datos se resumen en:

élice superior	0.0080
élice inferior	0.0004
paleta con inclinación	0.0172
paleta plana curvada	1.5242
paleta plana horizontal	0.0478
POTENCIA TEORICA	1.5976 HP.

Tomando en cuenta la conversión de energía eléctrica a la mecánica, se tiene que el factor de conversión promedio es de 0.8 (43). Dado el movimiento contrario de las élices y el ancla se asumió 30% más de potencia necesaria, además del dato teórico obtenido. La potencia ideal del motor para mover el agitador fue, entonces, de 2.5 HP.

2.5 Relación entre agitador y equipo de aireación.

El aire necesario para la fermentación es de 8 lt /min/kg de pulpa seca. Esta aireación se induce en el eje del agitador y se dispersa en el fondo por medio de un atomizador y la parte baja del ancla. El diseño se dividió en: Diseño del atomizador y de los agujeros del ancla.

2.6.1 Diseño del atomizador.

El atomizador se diseñó con la forma y en las medidas que se indican en el plano 3.A. Perry (43), presenta la fórmula para calcular el área de un arco, así:

$$A = r * H * 2 * 3.1416$$

Donde: r es el radio del círculo que contiene el arco
H es la altura del arco.

del análisis gráfico se tiene que r 3.43 cm y H 1.9cm.

$$\text{área} = 41.03\ cm^2$$

Para la densidad del orificio; acorde a Timmerhaus (55) se tiene que la densidad ideal es de 25 orificios por pulgada cuadrada, con un diámetro de 1 mm. Para los fines que se persiguen se obtiene un total de 159 orificios para el atomizador.

El total del área de salida de aire en el atomizador se obtiene con la fórmula:

$$A' = n * Pi * D^2 * 1/4$$

A' área de salida del aire en el atomizador
n número de orificios (159)
D diámetro de los orificios.

obteniéndose el área de 1.25 cm^2

2.6.2 Diseño de los agujeros del ancla.

Los orificios del ancla, se ubicaron en la cara superior del ancla, colocados desde el soporte medio hasta el fondo del atomizador. La densidad y el diámetro de los orificios, fue la descrita en el inciso 2.6.1.

El ancla fue de 5.08 cm de ancho, con una longitud útil del ancla bajo el soporte para colocar los orificios de 0.56 m por ancla, disponiéndose de un área de 0.056 m^2 por las dos anclas.

El total de orificios fue de 2,200 de 1 mm de diámetro, espaciados a cada 4 mm, siendo el área total por orificios de 17.28 cm^2. El área total de salida de aire (orificios del ancla y atomizador) fue de 18.53 cm^2.

2.7 Presión del aire en el agitador.

a. La presión total que debe vencer el aire para salir del agitador está definida por los siguientes componentes:

a. presión atmosférica 11,449.26 kg/m^2
b. presión debida al peso de la pulpa
c. pérdida de presión por fricción.

b. Para estimar la presión debida al peso de la pulpa de café Perry (43), Brown (14), McCabe y Smith (33), presentan la fórmula de pérdida de cabeza debida al peso de un material:

$$\text{Presión} = d \times h \times g/g_c$$

Donde: d es la densidad de la pulpa de café
h es la altura de la sustancia
g es el factor de gravedad
g_c es el factor de conversión

Para este caso se asumió que la altura de la pulpa es la que existe entre el orificio más lejano a la parte superior del material al llenar la marmita, y es de 0.48 m, luego:

$$\text{Presión} = 723.27\ kg/cm^2$$

y asumiendo 15% de pérdida de presión por fricción y por expansión de volumen al salir del atomizador:

$$\text{PRESION TOTAL DEL AIRE} = 14{,}059\ kg/m^2$$

La presión del aire que llega a la planta piloto es de 36,996 kg/m^2, entonces para obtener la presión de entrada del aire, con el flujo necesario, se dispuso de una válvula reguladora de presión.

2.8 Diseño de los raspadores.

Los raspadores fueron construidos con las medidas y forma indicadas en el plano 3B. La colocación sobre el ancla se hizo por medio de una bisagra, la cual tuvo la función de evitar esfuerzos grandes sobre la misma aspa. Además los raspadores fueron recubiertos con teflón del lado de la cara que rozaba con la pared de la marmita (53).

3. Diseño de los controles.

3.1 Control de temperatura: La temperatura ideal para la fermentación es de 35ºC. Con el fin de mantener esta temperatura se dispuso de la marmita enchaquetada, la cual se calienta con vapor, y la temperatura se controla con un termostato, donde la terminal se sumergió en el sustrato de pulpa de café, y los controles regularon el flujo de vapor por medio de una señal eléctrica en la válvula selenoide.

3.2 Control de humedad: la humedad ideal para la fermentación es de 80%, la cual se midió con un medidor de humedad, cuya función fue regular el flujo de agua, el que se logró dispersándolo por un atomizador y regulándolo con una válvula selenoide.

4. Diseño del abastecimiento de agua y aire.

Para el abastecimiento de agua y aire se aprovechó el ya existente en la planta piloto, y únicamente se colocaron reguladores para obtener las condiciones necesarias de flujo como se indica en el plano 4.

TERCERA PARTE

PROYECTO ECONOMICO DE INGENIERIA.

1. Descripción del proceso:

La representación del proceso de fermentación de la pulpa de café con el microorganismo **A. niger** se observa en el Diagrama 3. Las etapas del proceso para obtener el producto para alimentación animal consisten básicamente de las operaciones de: secado, molienda, mezclado, fermentación, empaque y almacenamiento de materia prima y producto.

El despulpado del grano de café se realiza por el proceso húmedo, y la pulpa se obtiene del beneficio con alto contenido de humedad (arriba del 85%). Entonces, es necesario secarla a humedad de 20 a 30% para realizar el proceso de molienda y humedecerla luego para utilizarla en fermentación con 80% de humedad. El producto fermentado se seca hasta lograr un contenido de humedad de 30% previo a la molienda del producto el cual se empaca en bolsas de 100 kg y se almacena. El proceso de secado se realiza por el método de secado mecánico, con el secador rotatorio, Molina y col. (35) informaron sobre comparaciones de varios métodos de secado y éste fue el que resultó más económico y eficiente, aunque el secado solar es un buen método económicamente, pero tiene el inconveniente de que necesita usar extensiones grandes para el secado, las cuales se usan también para secar el grano de café, que tiene un mejor precio en el mercado, sin embargo, debería estudiarse más a fondo el método de secado por acción solar a manera de optimizarse porque presenta gran potencial económico de energéticos.

2. Evaluación económica.

Al plantear el análisis económico para la industrialización del producto obtenido por fermentación de la pulpa de café, como ingrediente para concentrado animal, se presentan dos alternativas: La primera alternativa se basa en la extrapolación de los datos de producción obtenidos a nivel de planta piloto, utilizando varias unidades similares a la diseñada, pero con mayor capacidad (0.5 Tm). La segunda alternativa tiene la modificación de realizar la fermentación en bandejas con medidas de 1 m de ancho, 1.20 m de largo y 0.10 m de alto, con altura de sustrato de 5.08 cm y capacidad de 68.4 kg de materia por bandeja y un total de 210 bandejas, instaladas en un cuarto con temperatura, aireación, pH y humedad controlada a las condiciones necesarias para la fermentación. La metodo-

logía para la evaluación económica de las dos alternativas fue:

1. Establecimiento del equipo necesario para el proceso
2. Determinación de los costos del equipo para producción
3. Balance de materia y energía para el proceso
4. Cálculo de los costos fijos para el proceso
5. Cálculo de los costos de manufactura
6. Cálculo de los costos de producción total
7. Análisis de ganancia basado en ventas brutas y costo total del producto, expresado al final, como costo total del producto, por año, y costo de producto por kilogramo.

Primera alternativa:

El Diagrama de Flujo 3 presenta la secuencia de este proceso, el que incluye las operaciones fundamentales del mismo. El equipo necesario se lista en el Cuadro 23 en el que se presenta el costo de cada equipo instalado, obtenido por medio de tablas, gráficas y costos de equipos cotizados, los que se actualizaron por medio de índices de costos y por volumen o potencia, según el equipo. Se observa que el costo total del equipo instalado es de Q347,700.oo, de esta forma los costos fijos totales son de: Q381,700.oo, estimados con certeza de ± 15%. Con estos datos se observa que los costos del total del equipo constituyen el 62.27% del total de los costos fijos. Los costos de manufactura se estimaron por el modelo propuesto por Happel y Jordan (26), y los datos se presentan en los Cuadros 23-26. Como puede apreciarse, los costos se estimaron por año y por kg de producto obtenido, con 70% de sólidos y 30% de humedad. El análisis se realizó para obtener una producción de: 302,400 kg de producto por año para las dos alternativas, a partir de 1,008 Tm de pulpa de café con 70% de humedad como materia húmeda, con costo de Q1.oo/100 kg de materia. La localización de la planta debe ser cerca o adherida a un beneficio de café. Los costos del producto se realizaron para: materiales directos o indirectos, mano de obra directa e indirecta, etc., y por año de producción. El costo total para la primera alternativa es de Q208,076.35/año, y de Q0.68/kg de producto. A partir de este resultado, se calculó la ganancia bruta y la neta para esa alternativa, siendo de Q21,993.37/año y Q0.072/kg de producto, respectivamente (Cuadro 24).

Segunda alternativa:

En el Diagrama de Flujo 4 se presenta la segunda alternativa y se observa

que la variante del proceso es que la fermentación se realiza en bandejas, preparándose el medio en una mezcladora. El equipo necesario para la fermentación así como su costo se presenta en el Cuadro 25, siendo el costo total de Q115,250.oo. Los costos fijos se estimaron de igual forma que la alternativa anterior y ascienden a Q156,250.oo, como se observan en el Cuadro 25, y representan aproximadamente el 60% de la primera alternativa, los costos de manufactura se estimaron en la primera alternativa y ascienden a Q185,404.oo/año de producción y Q0.586/kg de producto, respectivamente (Cuadro 26). A partir de este resultado se obtiene la ganancia neta y la ganancia bruta, las cuales ascienden a Q36,734.88/año de producción, Q0.121/kg de producto y Q56,515.20/año de producción Q0.186/kg de producto, respectivamente (Cuadro 26). Al comparar las dos alternativas se tiene que el costo por equipo, el consumo de energía y la mano de obra son los factores que hacen diferente la economía de las dos alternativas. Con base en los datos presentados se concluyó que la segunda alternativa es la que representa el mejor proyecto económico de ingeniería para la industrialización de la pulpa de café fermentada para obtener un concentrado para alimentación animal.

VIII RESULTADOS Y DISCUSION

1. Materia Prima: La pulpa de café para la investigación fue obtenida del municipio de Amatitlán, Guatemala. Al momento de recoger la pulpa de café de los beneficios se observó que estaba mezclada con bastante cascabillo de café, lo cual constituía un problema para los fines de este estudio porque el cascabillo de café es un material cuya composición química, la constituyen valores altos de fibra cruda (9).

Por otra parte, se observó que en la pulpa de café, al tener alto contenido de humedad durante un período de tiempo, se desarrolla un crecimiento natural de microorganismos aeróbicos y anaeróbicos, lo que da como resultado una fermentación natural no controlada, por el crecimiento de una diversa gama de microorganismos. Esto puede dar como resultado la aparición de sustancias formadas por la fermentación, que por el desconocimiento de los microorganismos que las producen pueden, en algunos casos, ser nocivas a los animales. El usar esta pulpa como materia prima para la fermentación aeróbica conlleva la posibilidad que la fermentación aeróbica sea contaminada con microorganismos patógenos, que cambiarían el equilibrio de la fermentación ya optimizada en el laboratorio. Debido a lo anterior, fue necesario conservar adecuadamente la pulpa de café, para luego utilizarla como materia prima en la fermentación. Molina y col. (35), analizaron y evaluaron varios métodos de secado y encontró que el proceso de secado mecánico, usando el secador rotatorio, es el que técnica y económicamente resulta más factible de realizar para el secado de la pulpa de café.

También es posible usar la pulpa de café para la fermentación al salir del proceso de despulpado, ya que ésta sale con 85-90% de humedad; y resultaría más económico llevarla con un proceso de prensado a 80% de humedad, que es la necesaria para la fermentación de la pulpa de café con **A. niger.**

ENSAYOS DE LABORATORIO.

El análisis de los resultados de la experimentación a nivel de laboratorio de la pulpa de café, esencialmente se basó en la disminución de sustancias que se consideran tóxicas en la alimentación animal (cafeína, taninos y fibra cruda), y el aumento de proteína de la pulpa de café fermentada, de los diferentes tratamientos presentados en el Cuadro 7, con respecto a la pulpa original (tratamiento 29, Cuadro 7), y su comparación con el tratamiento al que se le agregaron las

cantidades estándar de sales, (tratamiento 28, Cuadro 7).

2. Aminoácidos Totales: En el Cuadro 8 se presenta el contenido de aminoácidos totales de la pulpa de café fermentada por 48 horas con el microorganismo **A. niger**, con el agregado de distintas sales que se identifican en el Cuadro 7. El contenido de aminoácidos se presenta en base sustrato con un 10% de humedad.

En el Cuadro 8 puede apreciarse que la fermentación de la pulpa de café con los tratamientos 01, 04, 16, 20 y 24 presentó el mayor contenido de aminoácidos totales, entre todos los tratamientos realizados, inclusive comparándola con la muestra a la que se le habían agregado las cantidades estándar de sales (tratamiento 28). Aunque los resultados de los tratamientos citados presentan diferencia ésta no probó ser estadísticamente significativa.

En el tratamiento 01 no se le agregaron sales de urea, fosfato dibásico de potasio y sulfato de amonio a la pulpa de café, siendo únicamente inoculada con el moho **A. niger** para fermentarse. Con este método, el contenido de aminoácidos totales de la pulpa aumentó, lo cual indica que el proceso de fermentación, el nitrógeno no proteico de la pulpa se transforma, lo cual se debe a la actividad metabólica del moho. Aguilar (1) encontró que existe disminución del contenido total de carbohidratos de la pulpa, pero en cuanto a la degradación de la cafeína y los taninos solamente los indica, pero no presenta resultados. Peñaloza (42) cita que otros autores informan que la cafeína es una fuente natural de nitrógeno para algunos mohos, pero en su estudio con pulpa de café no encontró variación en el contenido de cafeína de la pulpa fermentada con el moho **A. niger**. Sin embargo, en este caso para el tratamiento 01 hubo disminución del contenido de cafeína y taninos siendo la diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) para el primer compuesto, al comparar los datos con la pulpa no fermentada (tratamiento 29). Cuando a la pulpa de café no se le agregan fuentes externas de nitrógeno, el moho se ve forzado a metabolizar el nitrógeno de otras fuentes pero lo hace lentamente, y se tendría que estudiar si económicamente es factible de realizar. Los resultados del Cuadro 9 indican que existe disminución de la cafeína para el tratamiento 01, cuya concentración final fue de 0.89 ± 0.16 g de cafeína por 100 g de pulpa de café fermentada y secada al 10% de humedad, en base sustrato; mientras que el dato de la pulpa no fermentada fue de 1.5 ± 0.11 g% sobre la misma base. Esta diferencia fue estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$). Por otra parte, el contenido de taninos reportados por el tratamiento 01 es de

4.26 g% que, al compararlo con el dato de la pulpa no fermentada (5.06 g%), no presentó diferencia estadísticamente significativa

En el tratamiento 04, a la pulpa fue adicionada la urea como fuente de nitrógeno (1.5 g urea/100 g pulpa). Se realizó el proceso de fermentación con la metodología descrita anteriormente, obteniéndose un aumento del contenido de aminoácidos totales, como se observa en el Cuadro 8. Los taninos y la cafeína se encontraron similares a los datos del tratamiento 01. La fibra cruda, extracto etéreo y cenizas disminuyeron significativamente con la fermentación al compararlos con los tratamientos 01 y 29 (pulpa no fermentada), como se observa en los Cuadros 10 - 12.

Para el tratamiento 16 se le agregó urea y K_2HPO_4 como fuente de nitrógeno y fósforo en las cantidades 2.5 g y 2.0 de cada sal, respectivamente por 100 g de pulpa de café, obteniéndose también aumento del contenido de aminoácidos totales en la pulpa de café (10.45 ± 1.30 g%) después del proceso de fermentación, siendo su valor estadísticamente mayor ($P \leq 0.05$), que el de la pulpa no fermentada. En cuanto a cafeína y taninos no hubo diferencia estadísticamente significativa al comparar los resultados obtenidos con este material con los obtenidos con los otros tratamientos de la pulpa de café fermentada, pero los resultados sí probaron ser menores significativamente al compararlos con los de la pulpa de café no fermentada (tratamiento 29). Similarmente la fibra cruda, el extracto etéreo y las cenizas en el tratamiento 16 fueron levemente mayores que los obtenidos con los otros tratamientos de la pulpa de café fermentada, pero fueron menores, con diferencia estadísticamente significativa al compararlos con los de la pulpa de café no fermentada.

En el tratamiento 20 se agregó sulfato de amonio y fosfato dibásico de potasio en las cantidades de 2.5 g y 4.0 g respectivamente, por 100 g de pulpa de café al 10% de humedad. En el Cuadro 8 se aprecia que el contenido de aminoácidos totales (9.28 ± 3.28g%), aumenta con el proceso de fermentación con respecto al valor obtenido con la pulpa de café no fermentada, aunque con una alta desviación estándar, posiblemente debida a lo heterogéneo de la pulpa como sustrato para el crecimiento del moho, dado que en los otros análisis de este tratamiento se observa el mismo efecto.

En el tratamiento 24 se agregaron 5 g de sulfato de amonio, 1.5 g de urea y 4 g de fosfato dibásico de potasio, por 100 g de pulpa de café. En este trata-

miento se obtuvo el mayor contenido de aminoácidos totales (10.62 ± 1.96g%) durante las 48 horas de fermentación. El análisis de varianza indicó que no existe diferencia significativa entre éste y los otros tratamientos citados, pero sí hubo diferencia significativa al compararlo con la pulpa no fermentada. El contenido de cafeína y taninos fue menor significativamente que los valores de la pulpa no fermentada, como se observa en los Cuadros 9 y 13. El valor de la fibra cruda disminuyó de 23.06 ± 1.85 g% que corresponde a la pulpa no fermentada a 14.88 ± 2.37 g%. Posiblemente la alta disminución observada se deba en parte al agregado de sulfato de amonio, porque esta sal en solución acuosa se ioniza a $2(NH_4)^+ + SO_4^=$, y el ión sulfato tiende a disminuir los constituyentes de la fibra cruda en forma aún no explicada. Aguilar (1) encontró el mismo efecto aunque no explica la causa de la disminución de la fibra. Estudios informados por Bressani y col. (9) indican que los tratamientos de la pulpa de café con sustancias químicas, como el metabisulfito de sodio ($Na_2S_2O_5$), disminuyen significativamente su contenido de fibra. En este caso la causa más probable de la disminución de la fibra es que el moho produce la enzima celulasa que degrada la celulosa como se comprobó en los análisis **in vitro.**

El contenido de cenizas del tratamiento 24 es alto (10.45 ± 1.0 g%), con relación al contenido de la pulpa no fermentada, debiéndose el incremento al agregado de la sal K_2HPO_4 a la pulpa de café, porque el potasio y el fósforo de la sal pasan a formar parte de los minerales que constituyen el total de la ceniza de la pulpa.

La influencia de las sales agregadas a la pulpa de café sobre los aminoácidos totales obtenidos se resume en el Cuadro 15. Se observa que al aumentar la cantidad de urea agregada a la pulpa de café, disminuye el contenido de aminoácidos totales en la pulpa fermentada. Esto posiblemente se deba a que las concentraciones altas de urea en la pulpa, provocan cambios en las propiedades fisicoquímicas de las protéinas solubles. Braverman (7) indica que altas concentraciones de urea provocan pérdidas de solubilidad proteica, formación de geles irreversibles, la exposición de grupos reactivos, tales como los sulfhidrilos, y en general, que ocurre desnaturalización de la proteína. Basado en lo anterior lo que posiblemente podría estar ocurriendo es que con cantidades altas de urea, parte de la misma, estaría funcionando como fuente de nitrógeno para el moho y la parte excedente causaría los cambios fisicoquímicos indicados por Braverman (7), afec-

tando no sólo la solubilidad de la proteína, sino también el crecimiento del **A. niger.** Esto explicaría la disminución del contenido de aminoácidos totales de la pulpa de café fermentada sólo con el agregado de urea, aunque el nivel medio de urea agregada a la pulpa puede considerarse con buenas perspectivas para que el moho tenga una fuente de nitrógeno fácilmente metabolizable.

El efecto del agregado de sulfato de amonio a la pulpa de café en las cantidades de 0.0 g, 2.5 g, y 5.0 g de sal por 100 g se incluye en el Cuadro 15, donde puede observarse que el contenido de aminoácidos totales disminuyen al aumentar la cantidad de sal agregada a la pulpa. Braverman (7) indica que el sulfato de amonio sirve para precipitar proteína, para luego recuperarla para análisis. Posiblemente podría estar ocurriendo esta precipitación al tener exceso de sulfato de amonio en la pulpa, pues al haber una concentración alta, existe mayor probabilidad de contacto entre la proteína de la pulpa y el sulfato de amonio, lo que daría como resultado la precipitación de la proteína, reduciendo en esta forma no sólo la solubilidad proteica, sino también el crecimiento del moho y así, el contenido de aminoácidos totales en la pulpa fermentada, como se observa en las Gráficas 1-3.

El agregado de K_2HPO_4 a la pulpa de café disminuye levemente el contenido de aminoácidos totales al aumentar el agregado de la sal (Cuadro 15). El fosfato se agrega a la pulpa como fuente de fósforo para el moho. Además sirve como una sustancia buffer que regula el pH del sustrato (42). La disminución de los aminoácidos totales en el producto, posiblemente se debe a que la pulpa tiene un alto contenido de potasio (9) y al agregarle potasio como K_2HPO_4 podría interferir de alguna forma en la respiración del moho, interfiriendo el ciclo de Krebs (7); sin embargo, esta teoría tendría que verificarse.

El efecto que causa el agregado de las sales en sus diversas combinaciones se observa en el Cuadro 15 y en las gráficas 1, 2 y 3. Se puede apreciar que la combinación urea-sulfato de amonio disminuye el contenido de aminoácidos en las diferentes cantidades agregadas; igual efecto se observa en la combinación sulfato de amonio-fosfato dibásico de potasio, mientras que la combinación urea-fosfato dibásico de potasio forma curvas cóncavas hacia abajo, lo que nos indica que el moho necesita esencialmente de urea y fosfato dibásico de potasio como fuente de nitrógeno y fósforo para su metabolismo, y de esa forma efectuar bien su proceso respiratorio y el ciclo de Krebs.

Es importante hacer notar que el patrón de aminoácidos usado para la cuantificación de los mismos en este estudio fue diferente al usado por otros autores (1, 25, 42) en fermentación sólida de la pulpa de café, con el moho **A. niger.** Al patrón usado para este estudio no se le agregaron los aminoácidos azufrados en la solución; mientras que el usado por los otros autores (1, 25, 42), tenía la gama completa de aminoácidos. Esto influyó al relacionar la densidad óptica y el peso de los aminoácidos cuantificados. Por lo que al realizar comparaciones del contenido de aminoácidos de la pulpa de café de este estudio con otros estudios debe tomarse en cuenta este aspecto.

Cafeína: En el Cuadro 9 se presenta el contenido de cafeína de la pulpa de café fermentada con el moho **A. niger** con las diferentes cantidades de sales de urea, sulfato de amonio y fosfato dibásico de potasio agregadas (Cuadro 7). Puede observarse que la diferencia entre cada tratamiento de pulpa de café fermentada es muy poca, pero todos los tratamientos presentaron diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) con respecto al dato obtenido en la pulpa no fermentada.

En el Cuadro 16 se observa el efecto que el agregado de las sales de nitrógeno y potasio, tienen sobre el contenido de cafeína de la pulpa de café; esto se observa también en el Cuadro 15 y en las gráficas 4, 5 y 6. De las 27 posibles combinaciones presentadas en el Cuadro 7 se observa que: Primero, el agregado de las sales de urea, K_2HPO_4 y $(NH_4)_2SO_4$ a la pulpa de café produce resultados divergentes en cuanto al contenido de cafeína; segundo: se observa que cuando se agrega la menor y la mayor cantidad de una misma sal, el resultado de cafeína es levemente mayor que el dato obtenido de la concentración media.

Ninguno de los dos casos citados, sin embargo, presenta diferencia y/o tendencia definida, como se observa en las gráficas citadas. Esto se considera que es debido a que el moho no es capaz de metabolizar en igual forma las diferentes cantidades y tipos de sales, así como sus diferentes combinaciones, durante el tiempo de fermentación.

Anteriormente se indicó, que algunos microorganismos degradan la cafeína, metabolizando el nitrógeno que es parte de su fórmula estructural. Entre ellos se encuentra el moho **A. niger.** Estudios realizados por Peñaloza (42), y Aguilar (1) encontraron muy poca degradación de la cafeína en la pulpa de café por el moho **A. niger,** sugiriéndose que la concentración en que se agregaban las sales

141

de urea y sulfato de amonio como fuente de nitrógeno al sustrato para el moho era demasiado alta, e impedía que el moho metabolizara el nitrógeno de la cafeína a un ritmo mayor. En este estudio se encontró que existe disminución de la cafeína en todos los tratamientos realizados, inclusive cuando se agregan las sales en las cantidades citadas por los mencionados autores (tratamiento 28 del Cuadro 9). De lo anterior puede decirse que el moho **A. niger** posiblemente metaboliza el nitrógeno de la cafeína en un 15%.

Cenizas: Los resultados del contenido de cenizas en la pulpa de café fermentada con el moho **A. niger**, con las distintas cantidades de sales agregadas, se encuentran en el Cuadro 10. Se observa que los resultados varían de 6.59 a 12.26 g de cenizas por 100 g de pulpa de café al 10% de humedad, en base sustrato. Del análisis realizado para las 27 combinaciones de agregado de sales a la pulpa de café, se encontró que la única sal que afecta al contenido de cenizas de la pulpa fermentada es el fosfato dibásico de potasio. Como se observa en el Cuadro 15 y la gráfica 7, al aumentar el agregado de la sal también aumenta el contenido de ceniza en el producto. Bressani y col. (9) analizaron la composición química de las cenizas de la pulpa de café y encontraron al potasio y fósforo como principales componentes, y es natural pensar que cuando se agrega K_2HPO_4 al sustrato también aumenta el contenido de cenizas y de potasio en el producto fermentado. La función básica del fosfato monoácido de potasio es la de actuar como un tampón durante la fermentación, así como fuente de fósforo para el moho.

El método de fermentación de este estudio varió con relación al presentado por otros autores en fermentación sólida de la pulpa de café, dado que ellos agregaron KH_2PO_4 como fuente de fósforo, mientras que en este estudio se usó K_2HPO_4. Es lógico esperar entonces que los datos de cenizas en este estudio sean mayores al valor obtenido por otros autores.

Extracto Etéreo: En el Cuadro 11 se encuentra el contenido de extracto etéreo de la pulpa de café fermentada con el moho **A. niger**, con las diferentes cantidades de urea, K_2HPO_4 y $(NH_4)_2SO_4$ agregadas a la pulpa. Se observa una concentración de extracto etéreo entre 1.91 a 4.90 por 100 g de pulpa de café al 10% de humedad, en base sustrato. Las diferencias probaron ser no significativas ($P \leq 0.05$). La muestra no fermentada presentó un contenido de extracto etéreo de 4.08 ± 0.44 y el correspondiente dato de la muestra con el agregado estándar de sales fue de 3.23 ± 1.36. Los resultados para los otros tratamientos que tienen

menor cantidad de sales agregadas a la pulpa indican un contenido de extracto etéreo levemente menor a los apuntados arriba. Esto nos indica que la fermentación de la pulpa da como resultado un alimento para animales de menor densidad energética que el material original.

En el Cuadro 18 se observan los datos de extracto etéreo de las 27 combinaciones obtenidas al variar las cantidades de urea, fosfato dibásico de potasio y sulfato de amonio agregadas a la pulpa de café. La influencia de cada sal sobre el extracto etéreo del producto fermentado fue muy baja dado que el valor medio de extracto etéreo se encuentra entre 2 y 4 g por 100 g de pulpa de café al 10% de humedad. Datos similares han encontrado otros autores en pulpa ensilada o pulpa deshidratada (9, 12).

Algunos autores han analizado el extracto etéreo de otros forrajes, como la alfalfa y han encontrado que en la extracción de la grasa con éter etílico, también extrae otras sustancias, como pigmentos vegetales, ceras y algunos carbohidratos solubles en éter (2). El extracto etéreo de la pulpa de café podría variar, entonces en función del contenido de esas sustancias al momento de la cosecha del fruto del café.

Frear (22) encontró que la digestibilidad de la grasa saponificable de la alfalfa era de 66%, y 29% la de la grasa no saponificable. Esto indica que no toda la grasa es digerible. En el caso de la grasa de la pulpa de café se tendría que caracterizar y cuantificar primero los componentes de la grasa propiamente dicha y luego, realizar un estudio de la digestibilidad de la misma.

Fibra Cruda: En el Cuadro 12 se observan los datos de fibra cruda obtenidos en los diferentes tratamientos citados en el Cuadro 7. Se observa que existe diferencia entre los tratamientos, indicadas por las diferentes letras; puede verse que en los tratamientos que se agregó menor cantidad de fosfato dibásico de potasio presentaron los valores más bajos de fibra cruda.

Aguilar (1) informó que la fibra cruda de la pulpa disminuye durante la fermentación al degradarse la celulosa y la hemicelulosa por acción del moho **A. niger.** Esta degradación de la fibra se lleva a cabo porque el moho produce la enzima celulasa que hidroliza la celulosa, aumentando el contenido de carbohidratos solubles en la pulpa. En la alimentación animal, los hidratos de carbono de cadena corta se asimilan en mejor forma como fuente de energía que los hidratos de

carbono de cadena larga (como la celulosa o hemicelulosa), los cuales constituyen lo que se llama fibra cruda. Peñaloza (42) informó también que la fibra cruda disminuye al fermentar la pulpa con el moho **A. niger** agregando las sales de urea, sulfato de amonio y fosfato dibásico de potasio, en las cantidades estándar del Cuadro 7; y que esta disminución se debe a la hidrólisis de la celulosa por la acción de la enzima celulasa.

En el Cuadro 19 y en la gráfica 11 se observa que cuando se aumentan las cantidades de urea y sulfato de amonio agregadas al sustrato, el contenido de fibra cruda disminuye. Se considera que el nitrógeno de la urea y del sulfato de amonio favorecen el crecimiento del moho **A. niger**, que produce la enzima celulasa, y al haber mayor crecimiento del moho, naturalmente existe mayor cantidad de enzima celulasa, por lo que hay mayor degradación de celulosa, componente principal de la fibra cruda.

En la gráfica 12 se observa que el aumento de la cantidad de fosfato dibásico de potasio, con valores bajos de urea y sulfato de amonio disminuye la degradación de fibra cruda. Posiblemente se debió a que el K_2HPO_4 interfirió con el crecimiento del moho. La suposición es válida porque a medida que se favorecen las condiciones para el crecimiento del moho, el contenido de fibra cruda disminuye como lo expresan los resultados de las gráficas 11 y 12.

Taninos: En el Cuadro 13 se presentan los datos de taninos obtenidos en la pulpa de café usando el método de catequina. Se observa que al fermentar la pulpa de café sólo con la inoculación del moho **A. niger** (tratamiento 01), el contenido de taninos disminuyó levemente comparado con la pulpa de café no fermentada (tratamiento 29). Cuando se agregaron urea, K_2HPO_4 y $(NH_4)_2SO_4$ este contenido disminuyó aún más. También es importante indicar que el agregado de K_2HPO_4 únicamente a la pulpa de café produjo valores bajos de taninos, comparados con los datos obtenidos al agregar las otras sales a la pulpa de café.

Por otra parte, al relacionar los resultados obtenidos de aminoácidos totales y taninos de la pulpa de café (Cuadros 8 y 13) se observa que los tratamientos que tienen los menores contenidos de aminoácidos totales también tienen los menores contenidos de taninos. Posiblemente podrían estar reaccionando la proteína y los taninos durante el proceso de fermentación, formando complejos gelatinosos insolubles, lo cual afecta la cuantificación de los taninos por el método de catequina usado, obteniéndose resultados bajos.

Dado que la cuantificación de taninos por el método de catequina analiza únicamente los taninos hidrolizables, de altos pesos moleculares de la clase flavonoides conocidos con el nombre de catequina (7), para tener una mejor idea del total de taninos, habría que cuantificar los taninos condensables por el método de Folin Denis y obtener el total real de los polifenoles contenidos en la pulpa de café.

Pérdida de Materia Seca: El dato de pérdida de materia seca es el resultado de realizar un balance de material del proceso de fermentación. Los datos se sumarizan en el Cuadro 14. Para su determinación se tomó como 100% de materia seca inicial el peso seco del sustrato. La variación con respecto a la materia seca obtenida como producto del proceso de fermentación se denominó pérdida de materia seca. Lo que ocurre durante el proceso de fermentación es que el moho usa parte de la pulpa como fuente de carbono y, a través del metabolismo respiratorio origina la liberación de algunos gases como CO_2, CO y vapor de agua primordialmente. Para realizar un balance de materia con mayor precisión, sin embargo, se tendría que evaluar la cantidad y calidad de aire de entrada así como la salida de gases del medio de fermentación. Al relacionar los datos del Cuadro 14 con el tipo de tratamiento (Cuadro 7), se observa que los tratamientos que tienen mayor pérdida de materia seca son los que carecen o tienen la menor cantidad de K_2HPO_4 agregada a la pulpa de café; mientras que el tipo de fuente de nitrógeno y cantidad agregada a la pulpa, no parece influir en la pérdida de materia seca. Esto implica una posible relación entre la pérdida seca y los cambios de otras sustancias. Del análisis se encontró que existe una relación inversa entre la pérdida de materia seca y la fibra cruda del producto, siendo un razonamiento lógico y esperado porque mientras exista una mayor degradación de la fibra cruda implica mejor o mayor utilización de la pulpa por el moho.

Humedad: La humedad inicial de la pulpa fue de 80% (base húmeda) en todos los sustratos fermentados, manteniéndose constante durante todo el proceso ya que sólo varió en $\pm$ 2% de humedad, con relación a la humedad final del producto. La humedad usada fue la recomendada por Peñaloza (42), y la usada por otros autores (1, 25) en fermentación sólida de la pulpa de café con **A. niger.** La variación de humedad, no presentó efecto significativo con respecto a la variación de sales agregadas a la pulpa.

Dado que se forma vapor de agua como producto de la respiración del moho

al aumentar el tiempo de fermentación, es lógico esperar que la humedad tienda a aumentar, por lo que se hace necesario tener estricto control sobre el contenido de humedad del sustrato para evitar que los cambios en humedad influyan sobre el crecimiento y metabolismo del moho. Para asegurar el buen funcionamiento del proceso a nivel agroindustrial, es necesario usar sistemas de control semiautomáticos, que controlen la humedad y, pueda regularse el flujo de agua para tener la humedad al 80% esencialmente después de iniciado el proceso de fermentación.

Las humedades presentadas en el Cuadro 21 son las de la pulpa de café fermentada y secada. Es importante la estandarización de los valores de humedad para realizar los diversos análisis químicos del estudio porque los componentes se encuentran en los sólidos de la pulpa de café; entonces, para los análisis y cálculos se basó en 90% de sólidos y 10% de humedad de material.

Nitrógeno total: El contenido de nitrógeno total para cada tratamiento de la pulpa de café fermentada se presenta en el Cuadro 20. Se puede observar que cuando se aumenta la cantidad de urea a la pulpa de café el contenido de nitrógeno aumenta más que cuando se agrega sulfato de amonio.

El valor de esta determinación es dudosa dado a que el nitrógeno total cuantificado en los tratamientos de fermentación de la pulpa de café, incluye nitrógeno proteico orgánico (como urea) y sales como sulfato de amonio. Por lo mismo, parte de las sales agregadas (urea y/o sulfato de amonio), que no hayan sido utilizadas por el moho, pueden estarse cuantificando en la determinación.

PRUEBAS A NIVEL DE PLANTA PILOTO

Evaluación del Equipo de Fermentación.

La evaluación del equipo de fermentación se realizó en dos lotes de 100 kg aproximadamente de pulpa de café al 80% de humedad, fermentada con **A. niger**; agregando las sales de urea, y fosfato dibásico de potasio en las cantidades 2.5 g y 2.0 g/100 g de pulpa de café, usando un flujo de aire de 8 lts/minuto/kg de materia seca, un pH de 3.5 inicial y un tiempo total de 48 horas. Con esta metodología se obtuvo un producto con la composición química presentada en el Cuadro 22. Se observa que hubo disminución en el contenido de taninos y aumento de los aminoácidos totales, nitrógeno total y cenizas, mientras que los datos de fibra cruda y cafeína no presentaron cambio con respecto a los valores de la pulpa original.

La calidad de la pulpa de café fermentada a nivel de planta piloto comparada con la calidad obtenida a nivel de laboratorio fue menor en cuanto a la degradación de la fibra cruda, taninos y formación de aminoácidos totales. Posiblemente se debió a aspectos de optimización de funcionamiento del equipo de fermentación, tales como la velocidad de agitación. Peñaloza (42) cita a Hesseltine, indicando que la agitación ideal para la fermentación sólida en producto como el Koji, la producción de enzimas y/o micotoxinas es de 1 a 16 rpm. La usada en fermentación sólida de la pulpa de café fue de 12 y 9.5 rpm. Además, si se analiza la interacción espora- sustrato, la espora necesita de condiciones especiales para germinar, así como de un tiempo necesario de interacción con el sustrato para que la germinación pueda suceder; y al relacionar esto último con la velocidad de agitación posibiemente esta fue muy alta y la interacción o contacto entre la espora y el sustrato fue menor, por lo que la agitación posiblemente debiera ser menor (aproximadamente de 1 a 4 rpm), para fermentar la pulpa de café. Otro factor que posiblemente influyó en la fermentación fue la aireación, que aunque se mantuvo el flujo indicado; debe considerarse que cuando la aireación es por zonas (como es el caso del fermentador), la velocidad de flujo de aire posiblemente debe ser mayor para que exista suficiente disponibilidad de oxígeno, y los gases liberados por la fermentación puedan eliminarse para evitar que inhiba el crecimiento o germinación de las esporas.

El flujo de aire y la temperatura del medio pueden relacionarse en el proceso de fermentación; al calentar el aire a temperatura de 39ºC , el medio se mantendrá a 35ºC aproximadamente. De esta forma se reducen los gastos debido al vapor necesario para calentar directamente al medio a la temperatura necesaria. También el aire de aireación debe liberarse de impurezas como aceite y otros químicos para evitar que interfieran en el crecimiento del microorganismo.

Otro factor que influyó en el proceso a nivel de planta piloto fue el abastecimiento de agua para mantener la humedad del sustrato a 80% y fue porque no se dispuso de los controles necesarios para su verificación, la que se realizó en forma indirecta. Se considera que debe controlarse esta variable durante el proceso de fermentación. Una vez se hayan corregido estas variables que influyeron en el proceso de fermentación, debiera pensarse que la calidad de la pulpa fermentada mejorará considerablemente.

En síntesis, la discusión de los resultados de la fermentación de la pulpa de café en la experimentación de laboratorio se basó en el aumento de la proteína total, y en la disminución de sustancias consideradas tóxicas en la alimentación animal (cafeína, taninos y fibra cruda), dándosele mayor credibilidad, al resultado con mayor contenido de proteína (aminoácidos totales) porque el aumento de la proteína es debido a la biomasa, parámetro que indica mayor crecimiento del microorganismo, lo que conlleva al consumo de nutrientes como lo es fosfato dibásico de potasio, urea, carbohidratos solubles, y entre ellos podrían incluirse: los taninos, la cafeína y la fibra cruda. Sin embargo, esto requiere que el agregado de las sales (urea, K_2HPO_4 y $(NH_4)_2SO_4$, sea menor que el agregado en el tratamiento estándar de sales para que al final pueda contarse con un producto económico para la alimentación animal.

IX. CONCLUSIONES

1. La calidad fisicoquímica de la pulpa de café fermentada mejoró significativamente con relación a la calidad de la pulpa original, lo cual se demuestra con el contenido de proteína (aminoácidos totales) y la disminución del contenido de sustancias consideradas tóxicas para la alimentación animal (cafeína, taninos y fibra cruda). Asimismo, se logró una mejoría de las características de la pulpa fermentada en los tratamientos 01, 04, 16, 20 y 24 (Cuadro 7), todo esto con relación al tratamiento estándar (tratamiento 28 Cuadro 7).

2. Se demuestra que la concentración de sales estándar agregadas a la pulpa para su fermentación (urea 3.5 g; $(NH_4)_2SO_4$ 7 g; y K_2HPO_4 5.0 g) se disminuye considerablemente a: urea 2.5 g; y K_2HPO_4 2.0 g por 100 g de pulpa seca, siempre obteniendo un producto fermentado de buena calidad para la alimentación animal.

3. Fue posible diseñar y construir el equipo de fermentación sólida de la pulpa de café, utilizando sistemas de tecnología apropiadas para evaluar y proporcionar las condiciones necesarias para el proceso aeróbico de fermentación, a nivel de planta piloto.

4. A nivel de laboratorio se obtuvo una muy buena eficiencia de conversión en el aumento de la proteína total (45.77%) y en la disminución de sustancias tóxicas, cafeína (43.33%), taninos (37.13%) y fibra cruda (2.90%) de la pulpa fermentada con el tratamiento No. 16 (Cuadro 7) con relación a la pulpa original.

5. La evaluación del proceso de fermentación en el equipo diseñado y construido a nivel de planta piloto, se controlaron satisfactoriamente las variables de fermentación: pH, humedad, temperatura y aireación, lográndose una eficiencia de conversión de: Aumento de proteína total 29.13%, y disminución de sustancias consideradas tóxicas en alimentación animal de: cafeína 26.00%, taninos 62.00% y fibra cruda 0.0% de la pulpa fermentada con el tratamiento No. 16 (Cuadro 7) con relación a la pulpa de café original.

6. Al extrapolar los datos de producción de la pulpa de café fermentada, en base a los datos obtenidos con el equipo de planta piloto, se observa que

los costos de inversión en maquinaria y material auxiliar para preparar el sustrato son muy elevados, obteniéndose los costos de Q0.68/kg de producto, con 70% de sólidos y 30% de humedad. Los costos de producción disminuyen aumentando el volumen de producción o bien modificando parte del proceso de fermentación.

X. RECOMENDACIONES

1. Conociendo los resultados anteriores, obtenidos de la fermentación de la pulpa de café con el microorganismo **A. niger** con la variación de sales de nitrógeno y fósforo, se considera que debiera estudiarse el posible aprovechamiento de la cafeína de la pulpa de café como alkaloide (mediante una decafeinización), para usar el residuo de ese proceso para fermentación previo a emplearlo en alimentación animal. Esto sería factible, idealmente con buenas perspectivas económicas. Primero, realizar la percolación para la detoxificación de la pulpa; y luego, la fermentación de la pulpa con el microorganismo para disminuir la fibra cruda y aumentar la proteína verdadera para usar el producto como concentrado animal.

2. El diseño del proceso de fermentación presentado en este trabajo tiene la operación de secado de la pulpa de café en el momento de ser obtenida del beneficio, para luego realizar la operación de molienda. Se considera que, para reducir costos de operación, debiera evaluarse el realizar una etapa de prensado, en vez del secado y llevar a la pulpa a 80% de humedad que es la necesaria para la fermentación.

3. La fermentación de la pulpa de café por el método de bandejas se observa con muy buenas perspectivas económicamente, además de los buenos resultados obtenidos en laboratorio, aunque los datos no se presentan, creo necesario recomendar el estudiar y analizar un poco más profundamente esta metodología de fermentación. Las variables a controlar serían de carácter ambiental, además de la altura del sustrato en la bandeja, para que el crecimiento sea uniforme.

4. Es muy posible que la eficiencia del fermentador diseñado en este estudio, se puede aumentar al reducir las revoluciones del sistema de agitación a 3-4rpm. Dado que en este estudio se evaluó a 9-11 rpm. aspecto que interfiere en el contacto entre sustrato y microorganismo, se recomienda que para trabajos posteriores se tomen en cuenta las velocidades propuestas.

BIBLIOGRAFIA

1. Aguilar M., Dora P. **"Estudios sobre la utilización de carbohidratos, por A. niger en sistemas de fermentación sólida, usando pulpa de café como sustrato y diferentes niveles de fuentes de nitrógeno".** Tesis (Lic. Químico Biólogo). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala 1984. 120 p.

2. Bateman Jhon, V. **"Nutrición Animal"**; Manual de métodos analíticos.

3. Bendaña García, G. **"Efecto de tratamientos alcalinos por remojo o contacto sobre el valor nutritivo y composición química de la pulpa de café fresca o ensilada".** Tesis (Magister Scientificae), INCAP. USAC. CESNA. Guatemala 1977, 40p.

4. Boletín Informativo Internacional "ANACAFE", ediciones de octubre a marzo de: 1982/83, 1983/84.

5. Bohkenfor, R. y Fonseca, H. **"Calidad de ensilado con la pulpa de café conteniendo diferentes niveles de humedad y aditivos".** rev. AGA. octubre 1973; pgs. 15-20.

6. Braham J. E. **"Utilizatión of coffe as animal feed".** Asia, Londres 1880 pgs. 303-324.

7. Braverman, J. B. S. **"Bioquímica de los alimentos".** Trad. al español por Hill, Fernando. Editorial Manual Moderno, México 1980 pgs. 270-280.

8. Bressani, R. **"Pulpa y Pergamino de café para consumo animal"** VII reunión interamericana sobre el control de la fiebre aftosa y otras zoognosis. Pto España, Trinidad y Tobago, 1974.

9. _____, y Braham, J. (eds). **"Pulpa de Café".** Composición, Tecnología y Utilización de la pulpa de café, Ottowa, Canadá; International Devilopment Research Centre. 1978, 152 pgs.

10. _____, y González J. **"Evaluación de la pulpa de café como posible sustituto del maíz en raciones de pollos de carne".** Arch. Latinoamericanos Nutr. 28(2):208-221, 1978.

11. _____, y Elías, L. **"Utilización de la pulpa de café en bovinos".** En exposición pecuaria del Istmo C.A. El Salvador. 1976.

12. _____; Estrada, E.; Jarquín, R. **Pulpa y pergamino de Café".** En I. Composición química y contenido de aminoácidos de la proteína de la pulpa de café, Turrialba: 22:299-304, 1972.

13. _____; Estrada, E.; Elías, L.; Jarquín, R. **"Pulpa y Pergamino de café".** IV. Efecto de la pulpa de café en raciones para pollos y ratas. Turrialba 23:403-409, 1977.

14. Brown George. **"Operaciones Básicas de la Ingeniería Química".** Trad. por Calvet, F. et al. edit. Marin, Barcelona, España 1965, pgs.528-535.

15. Cabezas, M.; Gonzales, J.; Bressani, R. **"Pulpa y Pergamino de café".** Absorción y retención de nitrógeno en terneros alimentados con raciones elaboradas con pulpa de café, Turrialba 24:90-94, 1974.

16. _____; Estrada, E.; Murillo, B.; Gonzales, J.; Bressani, R. **"Respuesta de terneros a la pulpa de café, cafeína, ácido tánico en la ración".** Publicaciones INCAP 12:5-21 1978.

17. Calderón Muñoz, E. **"Estudios sobre posible mejoramiento Químico Nutricional de la pulpa de café por fermentación Oxidativa".** Tesis (Químico Biólogo), Facultad de Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, 1985; pgs 45.

18. Calle, V. H. **"Producción de gas combustible por fermentación metánica de la pulpa de café".** Boletín informativo, Ceni-café, Chichina; 1965; 50:22-27.

19. Cuevas, R. **"Optimización y factibilidad económica del proceso de decafeinicación de la pulpa de café".** Tesis Magister Scientificae, en Ciencia de los Alimentos y Nutrición Animal. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, INCAP. CESNA. Guatemala 1977.

20. Daqui, T. E. **"Características Químicas y Nutricionales de la Pulpa de Café ensilada con pasto Naiper y Planta de Maíz"** Tesis Magister Scientificae; Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, INCAP, CESNA. Guatemala 1975 55p.

21. De Rozo, M. P.; Vélez R.; Jeneatte.; García, A. **"Efecto de los polifenoles de la pulpa de café en la absorción de hierro".** Arch. Latin. de Nutr. 35(2):287-296;1985.

22. Donal E. H. Frear. PH. Dr. **"Tratado de la Química Agrícola".** Trad. por Rancaño Adolfo, Edit. Salvat S.A. pgs. 80-90 tomo II, 1956.

23. Gómez Brenes; R. y Bressani, R. **"Un método para la determinación de aminoácidos aplicable a problemas de suplementación fitomejoramiento y bioquímica nutricional".** Arch. Latin. de Nutr. 23:445-464; 1973.

24. Gonzales, J. **"VIII Preparación de ensilaje de pulpa de café"** CATIE, Turrialba, Costa Rica C. A. 41 P. 1974.

25. Guzman, Amalia. **"Efectos de nivel y naturaleza de fuente de nitrógeno sobre el mejoramiento de la calidad química nutricional de la pulpa de café por fermentación sólida usando A. niger".** Tesis (Lic. Químico Biólogo), Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala 1983, 84P.

26. Happel, John. y Donald G. Jordan. **"Chemical Processing Engineering"** 2da. edición, edit. Marcel Dekker Inc. New York 1975 488 pgs.

27. Isler; Fenucane, N. H.; y Borker, E. **"Rapid Spectrofotometric Determination of Cafeine".** Analitical Chemestry, 20:1162-1166 1948.

28. Jaffe, W. y Ortiz, S. **"Notas sobre el valor alimenticio de la pulpa de café".** AGRO. (Venezuela) 23:31-37, 1953.

29. Jorgensen, Alfred. **"Microbiología de las fermentaciones industriales".** Acribia Zaragoza, España, 7a. ed. 1959. 194 pgs.

30. Kenneth B. Raper y Dorothy I. Fennell. **"The Genus Aspergillus"** edit. Williams & Wilkins Company. Baltimore 1965, 293-340 pgs.

31. Krug, C. A.; Poerck, R. A. **"Estudio Mundial del café".** Roma, FAO. pgs.205-220, 1969.

32. Litwock Gerard. **"Bioquímica Experimental".** Trad. por Sanz Perez, B. Edit. Omega S.A. Barcelona, pgs. 213-249, 1967.

33. McCabe Warrem, L.; Smith, Julian. **Operaciones Básicas de Ingeniería Química".** Trad. por Mato V., PP.; y Coca, J. Edit. Reverte, España 1978, Tomo II, Cap. 4, 5 y 6.

34. Molina, M. R. y Avendaño, O. **"La Utilización de la Pulpa de Café en la alimentación de bovinos".** Publicaciones INCAP. 1978.

35. _____; De la Fuente, G.; Gudiel, H.; Bressani, R. **"Pulpa y Pergamino de café".** VIII. Estudios sobre la Deshidratación de la pulpa de café, Turrialba, 24:280-284, 1974.

36. _____; De la Fuente, G.; Batten, M.; y Bressani, R. **"Decaffeination a process to detoxify coffe pulp".** J. Agr. Food Chem. 22:1055-1058, 1974.

37. Murillo, B.; Cabezas, M.; Estrada, E.; Bressani, R. **"Respuestas de terneros a la pulpa de café, cafeína y ácido tánico en la ración".** INCAP. 12:15-24; 1977.

38. _____; Cabezas, M.; Jarquín, R.; Bressani, R. **"Pulpa y Pergamino de café".** VI. Adaptación del ganado bovino a la pulpa de café. Turrialba 24:160-167. 1974.

39. Mudgett, R. y Bajracharya, R. **"Effects of Controlled gas Environment in microbial enhancement of plant protein recovery".** J. Food Biochem. 3:135-149, 1980.

40. Organización de las Naciones Unidas. **"Manual para la Preparación de estudios de Viabilidad Industrial".** Nueva York 260 pgs. 1978.

154

41. Pelczar, M. J. **"Microbiología"**. Trad. por Leopoldo, M. 2da. ed. McGraw-Hill 1981, 193-310.

42. Peñaloza Izurieta, W. **"Fermentación sólida de la Pulpa de Café"** Tesis (Magister Scientificae) en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, CESNA, INCAP, 1981. 55pgs.

43. Perry, R. H. **"Chemical Engineers"**. Manual del Ingeniero Químico; 5a. ed. Tokyo, MacGraw-Hill, Koga Kusha ltd.

44. Potter, Norman. **"La Ciencia de Los Alimentos"**. Edit. Edutex México, S.A. Cap. 8, 1973.

45. Price, M. L. et al. **"Acritical Evaluation of the Vainilin Reaction as an assay for tanin in Sorghun Grain"**. J. Agric. Food Chem. 26(5):1214-1218, 1978.

46. Raimbault, M. **"Fermentation en Mileu Solide, Croissance de Champignones Filamenteux sur Sustrat Amylace"**. ORTON Paris, 291 pgs, 1981.

47. Ramirez, R. Q. **"Ingeniería Bioquímica"**. Edit. Alhambra, México pgs. 81-113, 1981.

48. Rendina, George. **"Técnicas de Bioquímica Aplicada"**. Trad. por Folet, Roberth. Edit. Interamericana, pags. 80-89, 1971.

49. Richardson, J. Coulson, J. y Peacock, D. **"Chemical Engineering"** Edit. Pergamino, Press. New York tomo I, II. 1975.

50. Rhodes, A. y Fletcher, P. **"Principios de Microbiología"**. Trad. por Cárdenas, E.; Edit. Acribia Zaragoza España, 1969. Pgs. 25-77.

51. Snedecor, G. W. **"Stadistical Methods Aplicad to Experiments in Agriculture and Biology"**. 5th ed. Ames, Iowa, The Iowa State College Press 534 pgs. 1966.

52. Sollman, Rorald. **"A Manual of Pharmacology...."**. Saunders Company, 268-275 pgs. 1957.

53. Solomons, G. L. **"Materials and Methods in Fermentation"**,...Edit London and New York, Academic Press. 330 pgs. 1969.

54. Striter, J. **"Ingeniería de los Materiales"**. Edit. Reverte. 1ra. ed. México, 26-88 pgs. 1986.

55. Peter, Max.; Timmerhaus, Klausus, D. **"Plant Desing and Economics for Chemical Engineers"**. Third Edition, McGraw-Hill, USA, 1980 pp. 133-280.

56. Vélez, A. J.; García, A.; De Rozo, M. **"Interacción in Vitro, entre los polifenoles de la Pulpa de Café y algunas Proteínas"**. Arch. Latin. de Nutr. 35(2):297-305, 1985.

155

A N E X O S

CUADRO No. 1

Producción de Café en Guatemala *

Año	Producción qq.
1974-1975	3,422 539.98
1975-1976	3,023,721.86
1976-1977	3 447,203.79
1977-1978	3,656,893.94
1978-1979	3,687,379.12
1979-1980	3,584,928.76
1980-1981	3,857,153.17
1981-1982	3,642,373.22
1982-1983	3,758,847.15
1983-1984	3,110,357.97

* Tomado de "Pulpa de café", Eds. Bressani, R. y Braham, J.

CUADRO No. 2

*** Distribución porcentual de las estructuras principales del café en cereza (base seca). g%**

Parte. / Variedad	Arábico	Burbón	Mezcla
Pulpa	26.5	29.6	28.7
Cascarilla	10.0	11.2	11 9
Mucílago	13.7	7.5	4.9
Grano de café	50.0	51.7	55.2

* Tomado de "Pulpa de café"; Eds. Bressani, R. y Braham, J.

CUADRO No. 3

Composición química proximal de la pulpa de café (en porcentaje). *

	Pulpa Fresca	Pulpa deshidratada	Pulpa fermentada y deshidratada
Humedad	76.7	12.6	7.9
Materia seca	23.3	87.7	92.1
Extracto etéreo	0.48	2.5	2.6
Fibra Cruda	3.4	21.0	20.8
Nitrogeno	2.34	1.8	1.7
Proteína (N * 6.25)	2.1	11.2	10.7
Cenizas	1.5	8.3	8.8
Extracto libre de N.	15.8	44.4	49.2

* Tomado de "Pulpa de Café"; Eds. Bressani, R. y Braham, J.

CUADRO No. 4

Sustancias orgánicas encontradas en la pulpa de café (base seca). *

Compuestos orgánicos	g%
Taninos	1.8 - 8.56
Sust. Pécticas totales	6.5
Azúcares reductores	12.4
Azúcares no reductores	2.0
Cafeína	1.3 - 0.51
Acido clorogénico	2.6
Acido cafeico total	1.6

* Tomado de "Pulpa de Café"; Eds. Bressani, R. y Braham, J.

CUADRO No. 5

Contenido de minerales encontrados en la pulpa de café *

Mineral	Porcentaje g%
Cenizas	8.300
Calcio	0.554
Fósforo	0.116
Hierro	0.015
Sodio	0.100
Potasio	1.765

* Tomado de "Pulpa de Café"; Eds. Bressani, R. y Braham, J.

CUADRO No. 6

Contenido de aminoácidos esenciales y no esenciales de la pulpa del café, comparada con la de otras especies (expresado en g /16 g de nitrógeno). *

Aminoácido	Pulp. de café	Harina de maíz	Harina de soya	Harina de algodón	h. de pescado
Lisina	6.8	1.7	6.4	4.3	9.7
Histidina	3.9	2.8	2.4	2.6	1.7
Arginina	4.9	3.1	7.2	11.2	6.8
Treonina	4.6	3.3	3.9	3.5	5.8
Cistidina	1.0	1.0	1.8	1.6	—.—
Metiotina	1.3	1.6	1.3	1.4	2.6
Valina	7.4	5.0	5.2	4.9	5.2
Leusina	7.7	16.7	7.7	5.9	8.6
Isoleucina	4.2	4.3	5.4	3.8	5.6
Terosina	3.6	5.0	3.2	2.7	—.—
Fenilalomina	4.9	5.7	4.9	5.2	3.7
Hidroxiprolina	0.5				
Ac. aspartico	8.7				
Serina	6.3				
Ac. Glutámico	10.8				
Prolina	6.1				
Elicina	6.7				
Alanina	5.4				

* Tomado de "Pulpa de Café"; Eds. Bressani, R. y Braham, R.

CUADRO No. 7

Tratamientos correspondientes a cada variación de sal de sulfato de amonio, urea y fosfato diabásico de potasio, agregadas a la pulpa de café. (Pruebas de Laboratorio)

No. de TRATAMIENTO	$(NH_4)_2SO_4$ g %	Fórmula UREA g%	K_2HPO_4 g%
01	0.0	0.0	0.0
02	2.5	0.0	0.0
03	5.0	0.0	0.0
04	0.0	1.5	0.0
05	2.5	1.5	0.0
06	5.0	1.5	0.0
07	0.0	2.5	0.0
08	2.5	2.5	0.0
09	5.0	2.5	0.0
10	0.0	0.0	2.0
11	2.5	0.0	2.0
12	5.0	0.0	2.0
13	0.0	1.5	2.0
14	2.5	1.5	2.0
15	5.0	1.5	2.0
16	0.0	2.5	2.0
17	2.5	2.5	2.0
18	5.0	2.5	2.0
19	0.0	0.0	4.0
20	2.5	0.0	4.0
21	5.0	0.0	4.0
22	0.0	1.5	4.0
23	2.5	1.5	4.0
24	5.0	1.5	4.0
25	0.0	2.5	4.0
26	2.5	2.5	4.0
27	5.0	2.5	4.0
28 *	7.5	3.5	5.0
29 **	—.—	—.—	—.—

* Muestra estándar.

** Muestra en blanco (no fermentada).

CUADRO No. 8

Contenido de AMINOACIDOS TOTALES de la pulpa de café (g A.T/100 g. de pulpa de café, al 10% de humedad) de los diferentes tratamientos de sales agregadas, (Base sustrato)

Número de TRATAMIENTO	g% de A. T.	Calificación
15	* 5.26 ± 0.25	** a
17	5.47 0.31	a-b
18	6.25 0.79	a-c
14	6.57 0.54	a-d
22	6.87 1.11	a-d
27	7.14 1.30	a-e
29	7.19 0.74	a-f
25	7.24 0.98	a-f
06	7.29 0.68	a-f
07	7.31 0.54	a-f
21	7.55 0.74	a-f
23	7.76 1.54	a-f
08	7.87 0.91	a-f
03	7.99 2.17	a-f
12	8.11 1.99	a-f
28	8.15 0.98	a-f
05	8.19 0.52	a-f
19	8.24 1.61	a-f
10	8.34 1.13	a-f
26	8.37 1.30	a-f
09	8.48 1.29	a-f
02	8.60 1.33	a-f
13	8.64 0.91	a-f
11	8.82 0.76	b-f
20	9.28 3.59	c-f
04	9,47 2.95	c-f
01	9.99 1.83	d-f
16	10.45 1.30	e-f
24	10.62 1.96	f

* Media de cinco repeticiones ± desviación estándar.

** Grupos con letras iguales indica que no existe diferencia significativa entre los tratamientos $P \leq 0.05$.

CUADRO No. 9

Contenido de CAFEINA (g de caf./100 g. de pulpa de café) de los diferentes tratamientos de la pulpa (base sustrato 10% de humedad)

Número de TRATAMIENTO	g% de cafeína		Calificación
17	* 0.63	± 0.18	** a
02	0.67	0.14	a-b
21	0.71	0.11	a-c
25	0.76	0.13	a-c
03	0.77	0.22	a-c
12	0.80	0.22	a-c
14	0.81	0.06	a-c
28	0.81	0.16	a-c
10	0.82	0.11	a-c
04	0.83	0.13	a-c
27	0.84	0.12	a-c
15	0.84	0.06	a-c
16	0.85	0.28	a-c
05	0.85	0.11	a-c
06	0.86	0.06	a-c
20	0.86	0.31	a-c
19	0.90	0.20	a-c
01	0.90	0.16	a-c
11	0.90	0.08	a-c
08	0.90	0.11	a-c
24	0.91	0.09	a-c
22	0.92	0.13	a-c
18	0.92	0.08	a-c
23	0.93	0.12	a-c
07	1.01	0.05	b-c
13	1.01	0.11	b-c
26	1.02	0.15	b-c
09	1.05	0.13	b-c
29	1.50	0.11	d

* Media de repeticiones ± desviación estándar.

** Grupos con letras iguales, no existe diferencia significativa estadísticamente P≤0.05.

CUADRO No. 10

Contenido de CENIZAS (g de C/100 g. de pulpa de café) de los diferentes tratamientos de pulpa (Al 10% de humedad, base sustrato)

Número de TRATAMIENTO	g % de C.	Calificación
03	* 6.59 ± 1.24	** a
05	6.83 0.32	a-b
04	6.93 0.88	a-b
07	7.00 0.62	a-c
02	7.08 1.64	a-d
06	7.33 0.42	a-d
17	7.42 1.49	a-d
08	7.46 1.05	a-d
10	7.62 0.73	a-e
12	7.65 2.13	a-e
29	7.69 0.66	a-e
09	7.71 1.20	a-e
14	7.76 0.82	a-e
15	7.81 0.26	a-e
16	8.51 1.15	a-f
01	8.67 1.66	a-f
18	8.89 0.51	a-g
21	9.02 1.21	a-g
11	9.08 1.20	a-g
27	9.30 0.99	a-g
25	9.44 1.50	a-g
13	9.81 0.96	a-g
28	10.02 1.64	b-g
26	10.16 0.88	b-g
24	10.45 1.07	c-g
19	10.65 2.20	d-g
20	11.14 3.75	e-g
22	11.39 1.55	f-g
23	12.26 2.73	g

* Media de 5 repeticiones, ± desviación estándar.

** Grupos con letras iguales indica que no existe diferencia significativa estadísticamente $P \leq 0.05$.

CUADRO No. 11

Contenido de EXTRACTO ETEREO (g EE.EE/100 g. de pulpa de café, al 10% de humedad y en base sustrato), de los diferentes tratamientos de pulpa

Número de TRATAMIENTOS	g % de EE. EE.		Calificación
25	* 1.91	± 1.24	** a
26	1.91	0.31	a
03	2.08	0.90	a-b
27	2.28	0.89	a-b
04	2.36	0.50	a-c
21	2.42	1.27	a-c
15	2.45	0.48	a-c
07	2.49	0.37	a-c
06	2.52	0.18	a-c
08	2.56	0.42	a-c
17	2.60	0.84	a-c
14	2.60	0.84	a-c
20	2.73	1.50	a-c
10	2.79	0.21	a-d
05	2.85	0.63	a-d
09	2.89	0.44	a-d
18	2.91	0.21	a-d
11	2.96	0.18	a-d
13	2.97	0.39	a-d
22	3.01	0.45	a-d
28	3.23	1.36	a-d
02	3.28	0.83	a-d
23	3.35	0.49	a-d
12	3.41	0.34	a-d
19	3.47	0.63	a-d
16	3.69	0.33	a-d
29	4.09	0.44	b-d
24	4.22	0.50	c-d
01	4.90	3.02	d

* Media de 5 repeticiones, ± desviación estándar.

** Grupos con letras iguales indica que no existe diferencia significativa estadísticamente $P \leq 0.05$.

CUADRO No. 12

Contenido de FIBRA CRUDA (G de F. C/100 g de pulpa de café al 10% de humedad, en base de sustrato) de los diferentes tratamientos

Número de TRATAMIENTO	g % de F. C.	Calificación
15	* 13.90 ± 0.95	** a
14	13.93 1.31	a
17	14.39 1.26	a
04	14.46 2.03	a
05	14.66 1.49	a
24	14.88 2.37	a
13	15.23 1.71	a
08	15.28 1.75	a-b
09	15.48 3.74	a-b
07	15.49 1.36	a-b
03	15.77 3.13	a-b
25	16.51 2.20	a-c
06	16.76 2.02	a-d
27	17.75 1.12	a-d
28	17.78 2.52	a-e
18	17.87 1.88	a-e
02	18.20 1.45	a-e
22	18.62 1.86	a-f
12	18.69 5.34	a-f
21	19.03 3.13	a-f
26	19.05 4.07	a-f
23	19.54 3.65	a-f
11	21.85 1.71	b-f
10	21.86 2.22	b-f
16	22.39 2.44	c-f
01	22.65 4.16	d-f
29	23.06 1.85	d-f
21	23.77 3.13	e-f
20	25.21 6.17	f

* Media de 5 repeticiones, ± desviación estándar.

** Tratamientos con grupos de letras iguales indica que no existe diferencia $P \leq 0.05$.

CUADRO No. 13

Contenido de Taninos en (g de taninos/100 g de pulpa de café al 10% de humedad y en base sustrato) de los diferentes tratamientos de la pulpa.

Número de TRATAMIENTOS	g % de taninos		Calificación
17	* 2.01	± 0.59	** a
06	2.16	0.32	a
18	2.42	0.36	a-b
14	2.57	0.47	a-b
10	2.64	0.73	a-b
23	2.70	1.08	a-b
22	2.75	0.58	a-b
19	2.75	0.94	a-b
05	2.89	0.14	a-b
12	3.03	1.61	a-c
24	3.04	0.67	a-c
07	3.17	0.62	a-c
16	3.20	1.17	a-c
02	3.22	0.10	a-c
08	3.27	0.39	a-d
21	3.31	0.39	a-d
03	3.35	1.12	a-d
28	3.35	0.90	a-d
15	3.44	0.54	a-d
20	3.48	0.43	a-d
26	3.54	0.46	a-d
13	3.69	0.96	a-d
27	3.74	0.60	a-d
25	3.81	1.14	a-d
04	4.03	0.72	b-d
01	4.26	1.02	b-d
11	4.82	0.64	c-d
09	4.88	0.92	c-d
29	5.09	0.76	d

* Media de 5 repeticiones, ± desviación estándar.

** Tratamiento con letras iguales indica que no existe diferencia significativa estadísticamente $P \leq 0.05$

CUADRO No. 14

Porcentaje de pérdida de materia seca durante el proceso de fermentación (g de materia perdida/100 g de pulpa de café inicial al 10% de humedad)

Número de TRATAMIENTO	g % de pérdida de materia		Calificación
25	* 1.13	± 1.13	** a
20	1.60	0.80	a
27	1.63	1.30	a
21	1.95	1.61	a
28	2.27	1.39	a
15	2.60	1.85	a-b
19	3.06	2.24	a-b
26	3.72	1.68	a-b
11	3.77	3.06	a-b
14	3.79	4.11	a-b
24	4.12	4.02	a-b
01	4.21	2.57	a-b
12	4.26	1.54	a-b
10	4.72	4.42	a-b
18	4.80	0.96	a-b
23	4.86	6.14	a-b
16	5.03	2.83	a-b
17	6.00	3.57	a-b
22	6.02	1.79	a-b
02	6.10	4.97	a-b
08	6.52	0.68	a-b
03	7.06	1.36	a-c
07	9.29	1.40	a-d
05	9.30	3.94	a-d
06	10.50	6.32	b-d
04	10.51	5.54	b-d
09	15.24	7.78	c-d
13	15.95	1.54	d

* Media de 5 repeticiones, ± desviación estándar.

** Tratamientos con grupos de letra iguales indica que no existe diferencia significativa estadísticamente $P \leq 0.05$

CUADRO No. 15

Efecto de las diferentes cantidades de las sales, y sus combinaciones sobre el contenido de aminoácidos totales. (gramos de sal por 100 gramos de pulpa, y gramos de aminoácidos por 100 gramos de pulpa al 10% de humedad, en base sustrato)

gramos de K_2HPO_4	gramos de $(NH_4)_2SO_4$	gramos de UREA 0.00	1.50	2.50
0.00	0.00	9.99	9.47	7.31
0.00	2.50	8.54	8.20	7.87
0.00	5.00	7.99	7.29	8.48
2.00	0.00	8.34	8.64	10.46
2.00	2.50	8.82	6.57	5.47
2.00	5.00	8.11	5.26	6.25
4.00	0.00	8.24	6.97	8.15
4.00	2.50	9.28	7.76	8.37
4.00	5.00	7.55	10.62	7.14

CUADRO No. 16

Efecto de las diferentes cantidades de sales y sus combinaciones sobre el contenido de cafeína. (g de sal por 100 g de pulpa; y g de cafeína por 100 g de pulpa al 10% humedad, en base sustrato)

gramos de K_2HPO_4	gramos de $(NH_4)_2SO_4$	gramos de UREA 0.00	1.50	2.50
0.00	0.00	0.90	0.83	1.01
0.00	2.50	0.68	0.85	0.90
0.00	5.00	0.77	0.86	1.05
2.00	0.00	0.83	1.01	0.77
2.00	2.50	0.90	0.81	0.64
2.00	5.00	0.80	0.84	0.92
4.00	0.00	0.90	0.92	0.76
4.00	2.50	0.86	0.93	1.02
4.00	5.00	0.71	0.91	0.84

CUADRO No. 17

Efecto de la Sal K_2HPO_4 sobre el contenido de CENIZAS de la pulpa fermentada, (g % de ceniza en base sustrato)

g de sal/ 100 g pulpa	0.00	2.00	4.00
Ceniza	7.29	8.14	10.43

CUADRO No. 18

Efecto de las diferentes cantidades de sales agregadas a la pulpa y sus diferentes combinaciones sobre el contenido de Extracto Etereo (g. EE.EE/100 g. pulpa 10% humedad y g sal/100 g pulpa)

gramos de K_2HPO_4	gramos de UREA / gramos de $(NH_4)_2SO_4$	0.00	0.00	0.00
0.00	0.00	4.90	2.36	2.49
0.00	2.50	3.28	2.85	2.56
0.00	5.00	2.08	2.52	2.89
2.00	0.00	2.79	2.97	2.39
2.00	2.50	2.96	2.67	2.60
2.00	5.00	3.41	2.45	2.91
4.00	0.00	3.47	3.09	1.91
4.00	2.50	2.73	3.35	1.91
4.00	5.00	2.42	4.22	2.28

CUADRO No. 19

Efecto del agregado de Urea, y $(NH_4)_2SO_4$, sobre el contenido de la fibra cruda de la pulpa de café (g de F.C. por 100 g de pulpa al 10% de humedad)

gramos de UREA / gramos de $(NH_4)_2SO_4$	0.00	1.50	2.50
0.00	22.76	16.10	17.34
2.50	21.75	16.04	16.24
5.00	17.83	15.18	17.04

CUADRO No. 20

Efecto de las diferentes cantidades de sal agregada a la pulpa y sus diferentes combinaciones sobre el contenido de nitrógeno total (g Nit.T/100 g de pulpa y g sal/100 g P)

g % de K_2HPO_4	g % de $(NH_4)_2SO_4$	UREA 0.00	1.5	2.5
0.00	0.00	1.89	2.34	2.37
0.00	2.50	1.62	2.30	2.48
0.00	5.00	1.82	2.20	3.05
2.00	0.00	1.49	2.18	2.13
2.00	2.50	1.90	1.87	2.25
2.00	5.00	2.86	2.10	2.57
4.00	0.00	1.70	2.13	2.13
4.00	2.50	2.08	2.52	2.46
4.00	5.00	1.95	2.45	2.53

CUADRO No. 21

Humedad de la pulpa fermentada y secada (g agua/100 g de pulpa), y pH inicial y final de la materia fermentada

Número de Tratamiento	g de agua por 100 g pulpa		PH INICIAL		PHFINAL	
01	9.08	± 1.71	3.30	± 0.07	3.79	± 0.07
19	9.08	1.89	3.47	0.02	3.81	0.11
29	9.76	0.89	—.—	—.—	—.—	—.—
20	9.84	3.17	3.51	0.02	3.75	0.03
11	10.02	0.91	3.51	0.02	3.52	0.04
23	10.40	1.35	3.51	0.04	4.53	0.13
16	10.62	1.72	3.49	0.02	4.61	0.37
22	10.85	1.25	3.51	0.02	4.66	0.13
12	11.33	2.52	3.49	0.02	4.58	0.31
24	11.43	1.33	3.42	0.08	4.20	0.08
18	11.45	0.51	3.51	0.06	4.50	0.18
10	11.48	1.13	3.20	0.00	3.32	0.04
26	11.48	1.27	3.48	0.05	4.48	0.24
27	11.54	1.12	3.52	0.02	4.48	0.16
28	11.54	1.80	3.51	0.02	4.07	0.21
25	11.55	1.73	3.43	0.12	3.95	0.04
02	12.15	1.90	3.18	0.34	3.32	0.49
21	12.21	1.73	3.48	0.02	3.58	0.04
13	12.56	0.92	3.53	0.02	3.93	0.14
05	12.61	0.72	3.20	0.00	4.17	0.15
15	12.62	0.63	3.51	0.02	4.29	0.08
08	12.63	1.08	3.51	0.02	4.13	0.18
06	12.68	0.36	3.50	0.09	3.67	0.16
07	12.85	0.41	3.47	0.07	3.83	0.25
09	13.04	0.92	3.52	0.04	3.93	0.13
14	13.08	0.52	3.51	0.02	4.38	0.16
04	13.24	1.26	3.54	0.03	4.47	0.67
17	13.27	1.89	3.50	0.03	4.33	0.06
03	13.58	2.95	3.42	0.03	3.58	0.06

± Desviación estándar.

CUADRO No. 22

Composición química proximal de la pulpa de café fermentada con **A. niger** obtenida en la planta piloto

	Características de la pulpa de café original g%	Características de la pulpa de café fermentada g%	% de remoción
Materia seca	90.00	90.00	
Humedad	10.00	10.00	
Extracto etéreo	1.94 ± 0.25	1.27 ± 0.27	- 3.40
Fibra Cruda	18.16 0.39	18.30 1.90	0.00
Cenizas	8.93 0.30	9.30 1.21	+ 4.14
Nitrógeno	1.33 0.30	2.05 0.20	+54.13
Cafeína	0.93 0.04	0.69 0.30	-26.00
Taninos	5.37 0.56	2.03 0.22	-62.00
Aminoácidos totales	6.80 0.40	8.70 0.77	+29.00

x Datos porcentuales ± desviación estándar

+% Aumento, -%disminución con relación a la pulpa original

Condiciones evaluadas en el fermentador

Flujo de aire: 8 lts/min/kg de pulpa seca

Temperatura: 35ºC.

pH inicial: 3.5

Humedad inicial: 80%

Tiempo fermentación: 48 horas

K_2HPO_4: 2.0 g/100 g de pulpa de café seca

UREA: 2.5 g/100 g de pulpa de café seca.

CUADRO No. 23

COSTOS FIJOS CALCULADOS PARA LA PRIMERA ALTERNATIVA, VASIJA FERMENTADORA CON AGITACION

1.	EQUIPO INSTALADO:		
	21 fermentador Q15,000.00 c/u.	315,000.00	
	1 molino de martillo de 3 HP	10,000.00	
	1 secador tipo rotatorio de 3 HP	4,000.00	
	1 termostato de 0 a 100ºC	1,000.00	
	1 calentador de aire, de 1 HP	1,500.00	
	1 medidor de aire de 150 m3	200.00	
	1 medidor de agua de 20 lt/min.	300.00	
	1 compresor de 3 HP	4,000.00	
	cristalería de laboratorio	2,000.00	
	papelería y equipo de oficina	4,000.00	
	mantenimiento (10%)	5,700.00	347,700.00
2.	CONSTRUCCION DE EDIFICIO		10,000.00
3.	TERRENO		4,000.00
4.	LINEAS EXTERNAS		5,000.00
5.	INGENIERIA DE CONSTRUCCION		15,000.00
	TOTAL DE COSTOS FIJOS:		381,700.00

CUADRO No. 24

COSTOS DE MANUFACTURA, PRIMERA ALTERNATIVA
VASIJA FERMENTADA CON AGITACION

PRODUCTO: PULPA FERMENTADA — PRODUCCION: 302,400 kg./año

COSTO DE LA PLANTA: Q.347,700.00 (C.F.) — COSTO DE MATERIA PRIMA: Q.1.00/100 kg.

LOCALIZACION: En un beneficio de café.

Materia prima:	Unidad	Tot. kg./año	kg/kg produc.	costo Q./año	Costo Q./kg. P.
Pulpa de café	kg.	1,008,000	3.333	10,800 (1)	0.003

	PARCIALES Q./año	PARCIALES Q./kg Prod.	TOTALES Q./año	TOTALES Q./kg. Prod.
Mano de obra directa Q.0.60/hr.				
8hr/turno	15,552.00	0.051		
Supervisión Q.1.20/hr				
8hr/turno	3,456.00	0.011	(2)	
Costo de mano de obra			19,456.00	0.064
Utilidades:				
Material auxiliar el sustrato	44,903.00	0.148		
Electricidad Q.169/lote. 0.18/KWH.	50,000.00	0.240		
Gas, Agua, insumos.	346,00	0.001	(3)	
Costo total de utilidades			95,249.00	0.314
Costos Indirectos:				
Transporte 10% M.O.	2,500.00	0.021		
Seguros 20% M.O.	3,250.00	0.011		
Mejoramiento a proceso 15% M.O.	2,437.95	0.008		
Mantenimiento 2% C.F.	3,734.00	0.012	(4)	
Total de costos indirectos			11,922.35	0.039
COSTO TOTAL DEL PROCESO: 1 + 2 + 3 + 4 =			136,707.85	0.452
Empaque 5% de c.t.f.	30,000.00	0.099		
Depreciación 4.5% C.F.	17,176.50	0.056	47,176.50	0.156
Mercadeo:				
Valor del Producto (V.P.)	241,920.00	0.800		
Costo de mercadeo 10% de V.P.	24,192.00	0.080	24,192.00	0.080
COSTO TOTAL DEL PRODUCTO C.T.P.			208,076.35	0.688
GANANCIA BRUTA: (G.B) 241,920.00				
Valor Prod. Tot. - C.T.P. 208,076.35			33,843.65	0.112
Impuesto sobre la renta. 35% G.B.			11,845.27	0.039
GANANCIA NETA			21,998.37	0.072

CUADRO No. 25

COSTOS FIJOS DE LA SEGUNDA ALTERNATIVA FERMENTACION EN BANDEJAS

1.	EQUIPO INSTALADO:		
	210 bandejas de fermentación	Q. 52.500.00	
	Instantería de bandejas	26.250.00	
	1 molino de martillo de 3 HP	10.000.00	
	1 secador rotatorio de 3 HP	4,000.00	
	1 termostato ambiental	1,500.00	
	1 mezcladora	9,000.00	
	1 compresor de 3 HP	4,000.00	
	1 humidificador	3,000.00	
	Cristalería de laboratorio	3,000.00	
	Equipo de oficina	2,000.00	
	Equipo auxiliar	2,000.00	
1.	COSTO TOTAL DE EQUIPO INSTALADO		Q.115,250.00
2.	CONSTRUCCION DE EDIFICIO		15,000.00
3.	TERRENO		5,000.00
4.	LINEAS EXTERNAS		5,000.00
5.	INGENIERIA DE CONSTRUCCION		16,000.00
	TOTAL DE COSTOS FIJOS		Q.156,250.00

CUADRO No. 26

COSTOS DE MANUFACTURA, SEGUNDA ALTERNATIVA
FERMENTACION EN BANDEJAS

PRODUCTO: PULPA FERMENTADA — PRODUCCION: 302,400 kg. P./año

COSTO DE LA PLANTA: Q.156,250.00 (C.F.) — COSTO DE MATERIA PRIMA: Q.1.00/100 kg. P.

LOCALIZACION DE LA PLANTA: En un beneficio de café.

Materia Prima:	Unidad	Tot. Kg./año	kg./kg. produc.	Costo Q./año	Costo Q./kg. P.
Pulpa de café:	Kg.	1,008.000	3.33	10,080 (1)	0.033

	PARCIALES Q./año	PARCIALES Q./kg. Prod.	TOTALES Q./año	TOTALES Q./kg. Prod.
Mano de obra directa Q.0.60/hr 8hr/turno	15,552.00	0.051		
Supervisión Q.1.20 hr. 8hrs/turno	33,456.00	0.011	(2)	
Costo total de mano de obra:			19,456.00	0.064
Utilidades:				
Material auxiliar del sustrato:	44,903.00	0.148		
Electricidad 0.18/KWH.; 72.56/lote	6,976.00	0.023		
Gas, Agua otros insumos.	500.00	0.001	(3)	
Costo total de utilidades			52,379.00	0.173
Costos Indirectos:				
Almacén y Suministros 20% M.O.	3,891.00	0.012		
Transporte 10% M.O.	2,500.00	0.008		
Seguros 20% M.O.	3,891.20	0.012		
Mantenimiento 2% C.P.	2,985.00	0.009	(4)	
Mejoras al proceso 15% M.O.	2,918.40	0.009	16,185.80	0.053
COSTO TOTAL DEL PROCESO 1 + 2 + 3 + 4 =			98,100.00	0.324
Empaque 5% c.t.p.	49,050.00	0.162		
Depreciación 8% C.P.	14,062.00	0.046	63,112.00	0.208
Mercadeo:				
Valor del Producto (V.P.)	241,920.00	0.800		
Costo de Mercadeo 10% V.P.	24,192.00	0.080	24,192.00	0.080
COSTO TOTAL DEL PROCESO: C.T.P.			185,404.80	0.613
GANANCIA BRUTA: (G.B.) 241,920.00 V.P. menos C.T.P. 185,404.80			56,515.20	0.186
Impuesto sobre la renta; 35% de G. B.			19,780.32	0.065
GANANCIA NETA: (G.B. menos impuestos)			36,734.88	0.121

CUADRO No. 27

Estimación del costo de materiales auxiliares
para producir 302,400 Kg. de pulpa fermentada

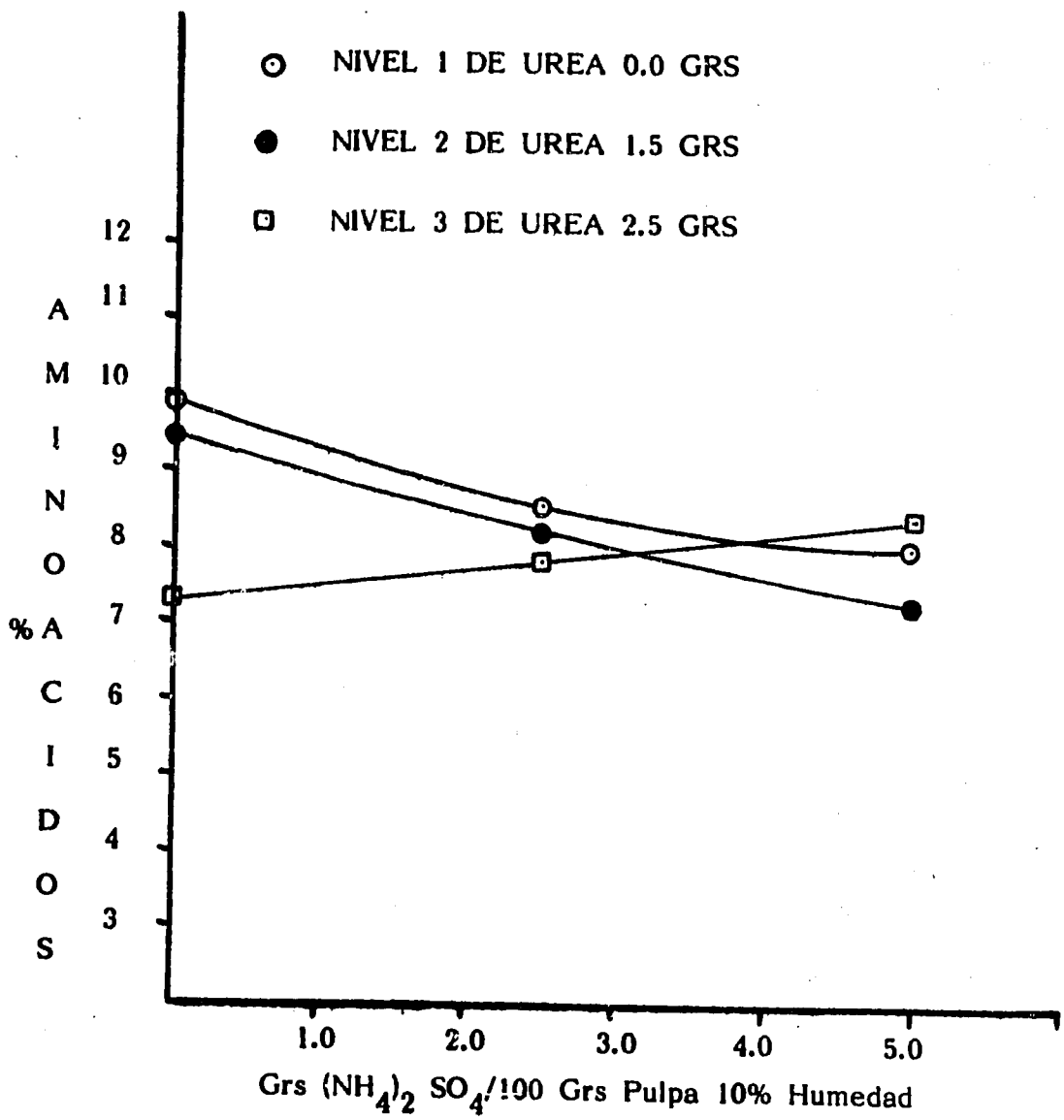
MATERIALES AUXILIARES:

PDA Q100.00/lb. (24 lbs)	2,400.00
Cajas de petrí Q12.00/bolsa (12 bol.)	1,440.00
HCl, Q12.50/gal. (1008 gals.)	12,600.00
Acido tartárico (2 lbs)	300.00
Urea Q0.69/lb; 13,860 lbs	9,563.00
Fosfato dibásico de potasio Q1.50/lb. (11,088 lbs)	18,900.00
COSTO TOTAL	Q 44,903.00

GRAFICA No. 1

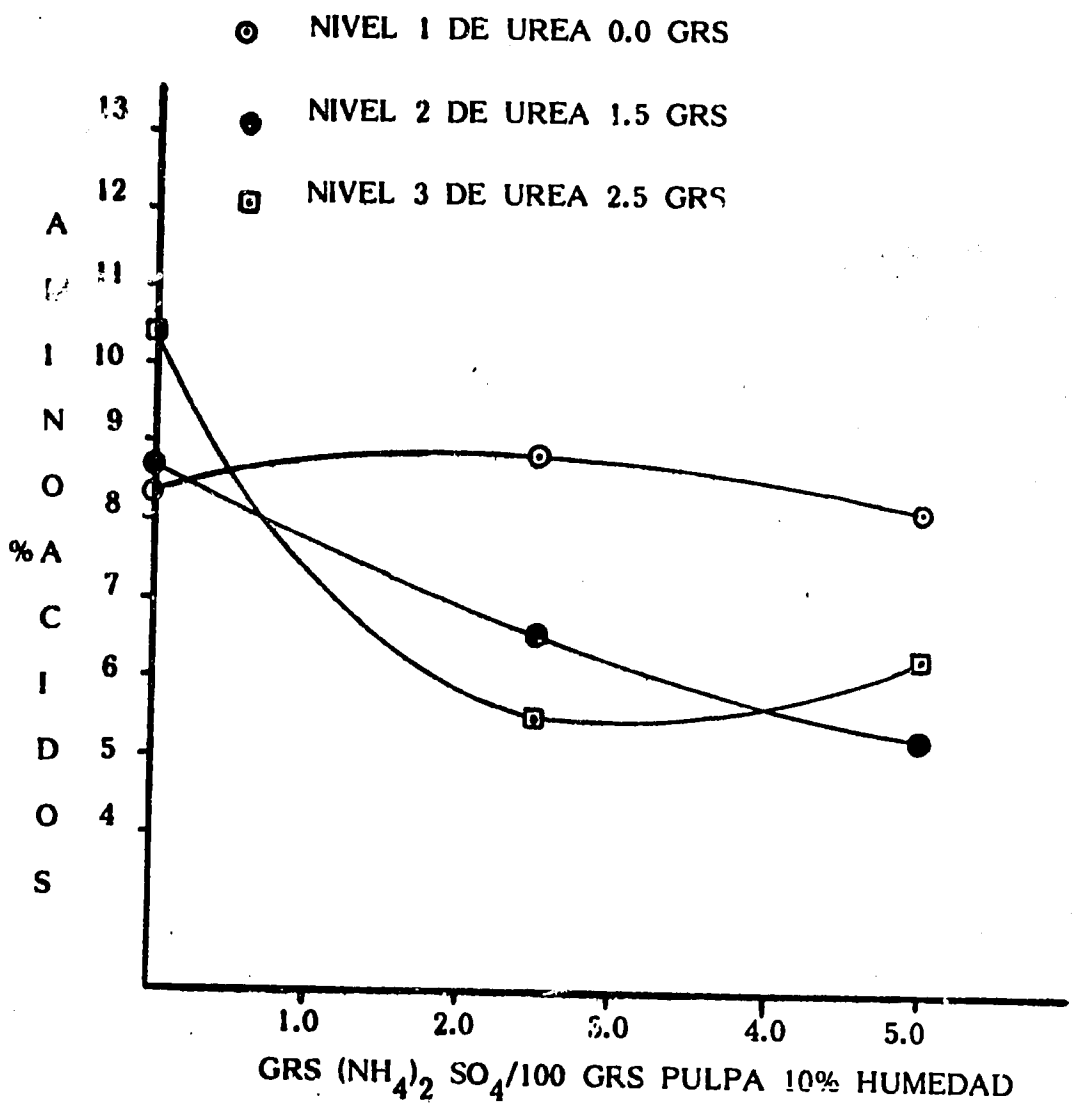
Porcentaje de AMINOACIDOS en función de las sales agregadas

(0.0 g. de K_2HPO_4)



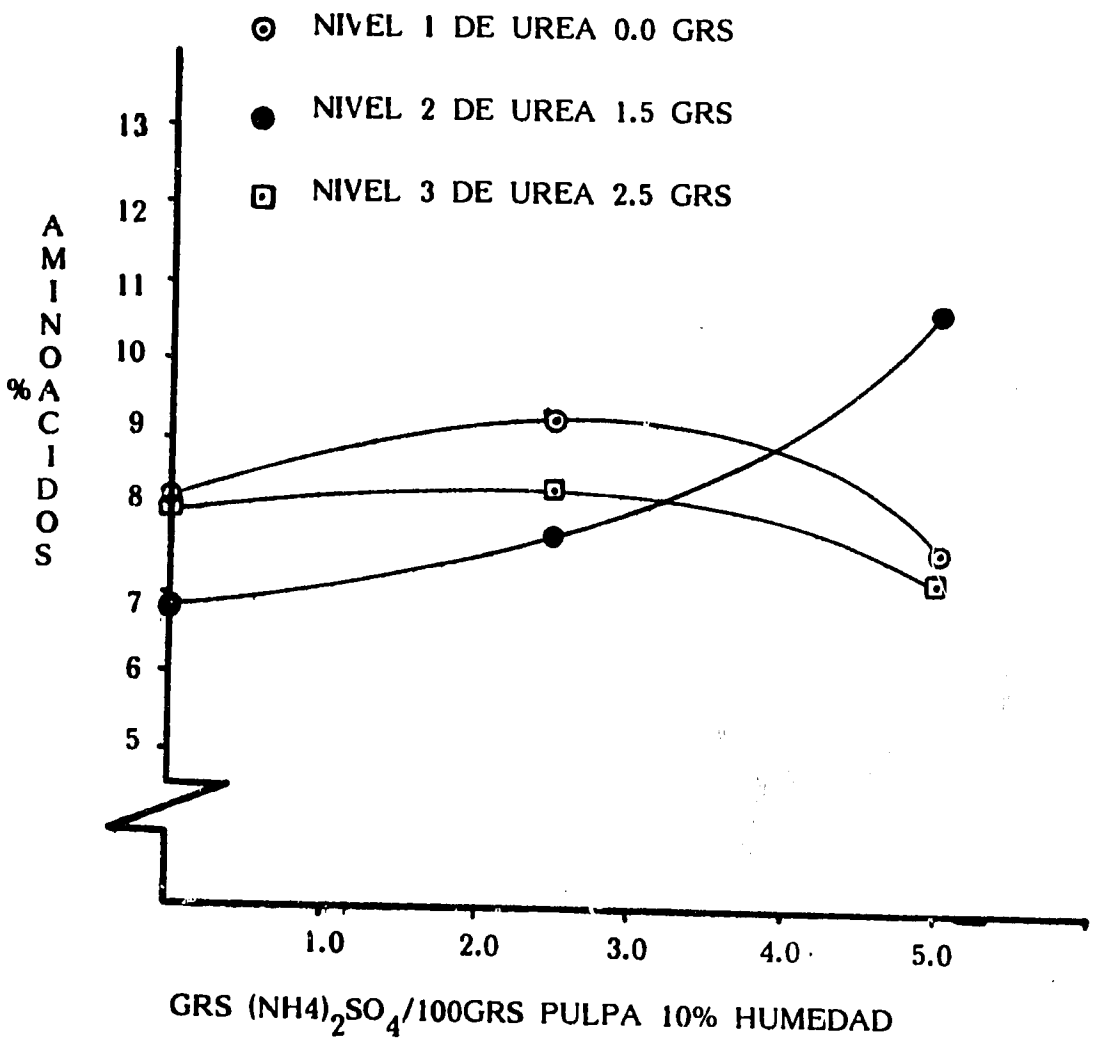
GRAFICA No. 2

Porcentaje de AMINOACIDOS en función de las sales agregadas (2.00 Grs. K_2HPO_4 por 100 grs de pulpa de café) .



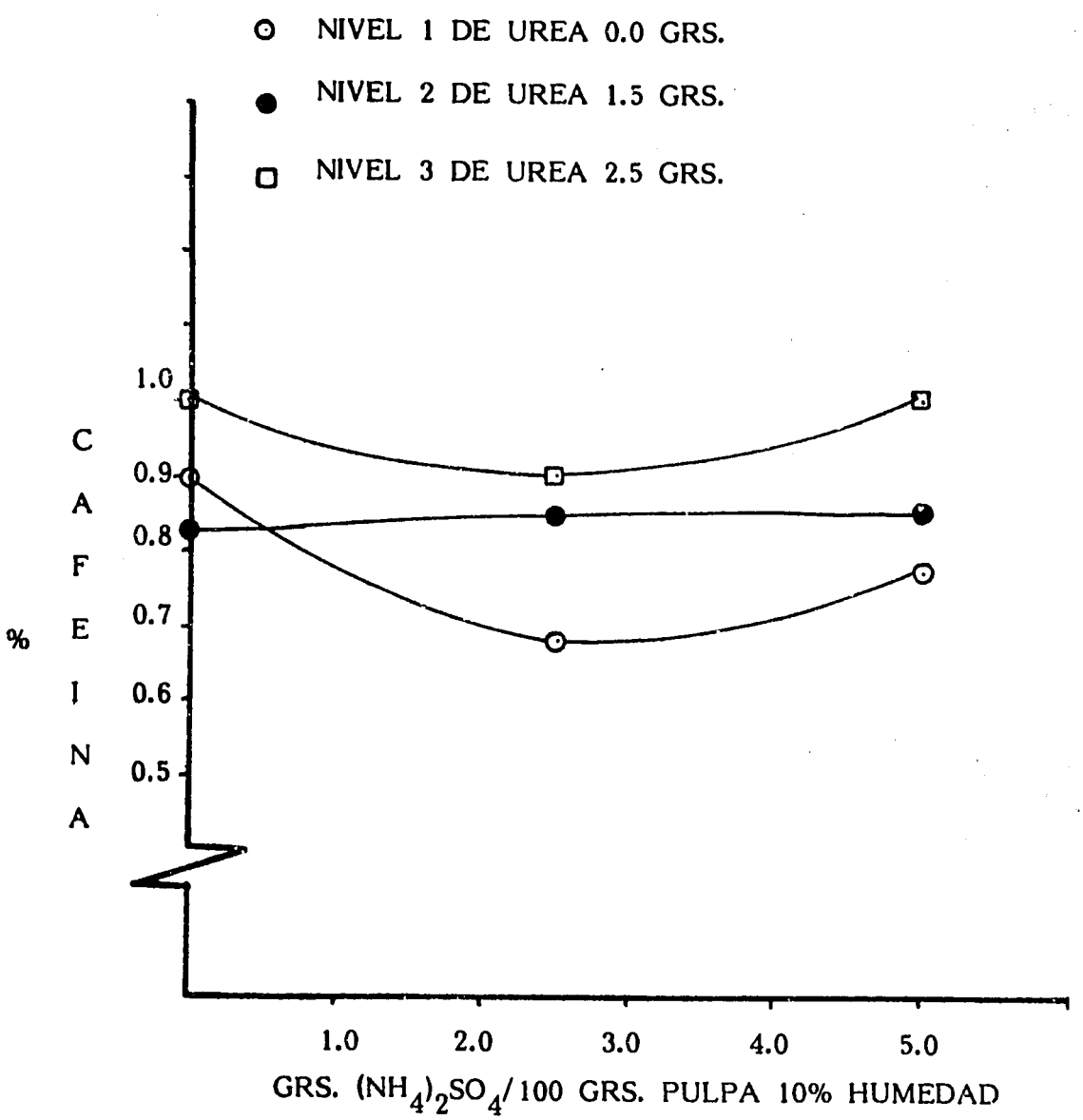
GRAFICA No. 3

Porcentaje de AMINOACIDOS totales en función de las sales agregadas (4 g. de K_2HPO_4 /100 g. de pulpa)



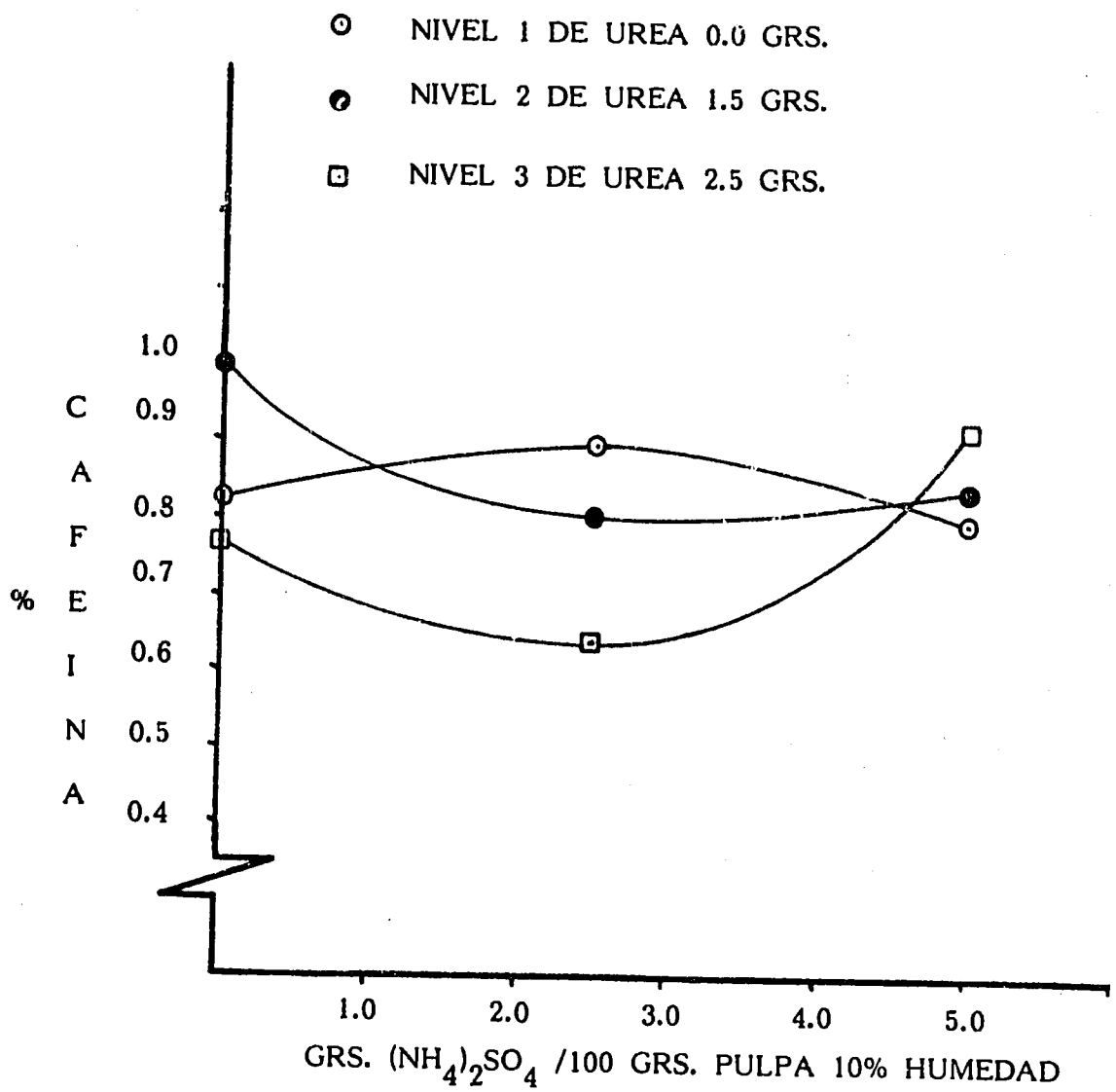
GRAFICA No. 4

Porcentaje de Cafeína total en función de las sales agregadas
(0.0 g. de K_2HPO_4)



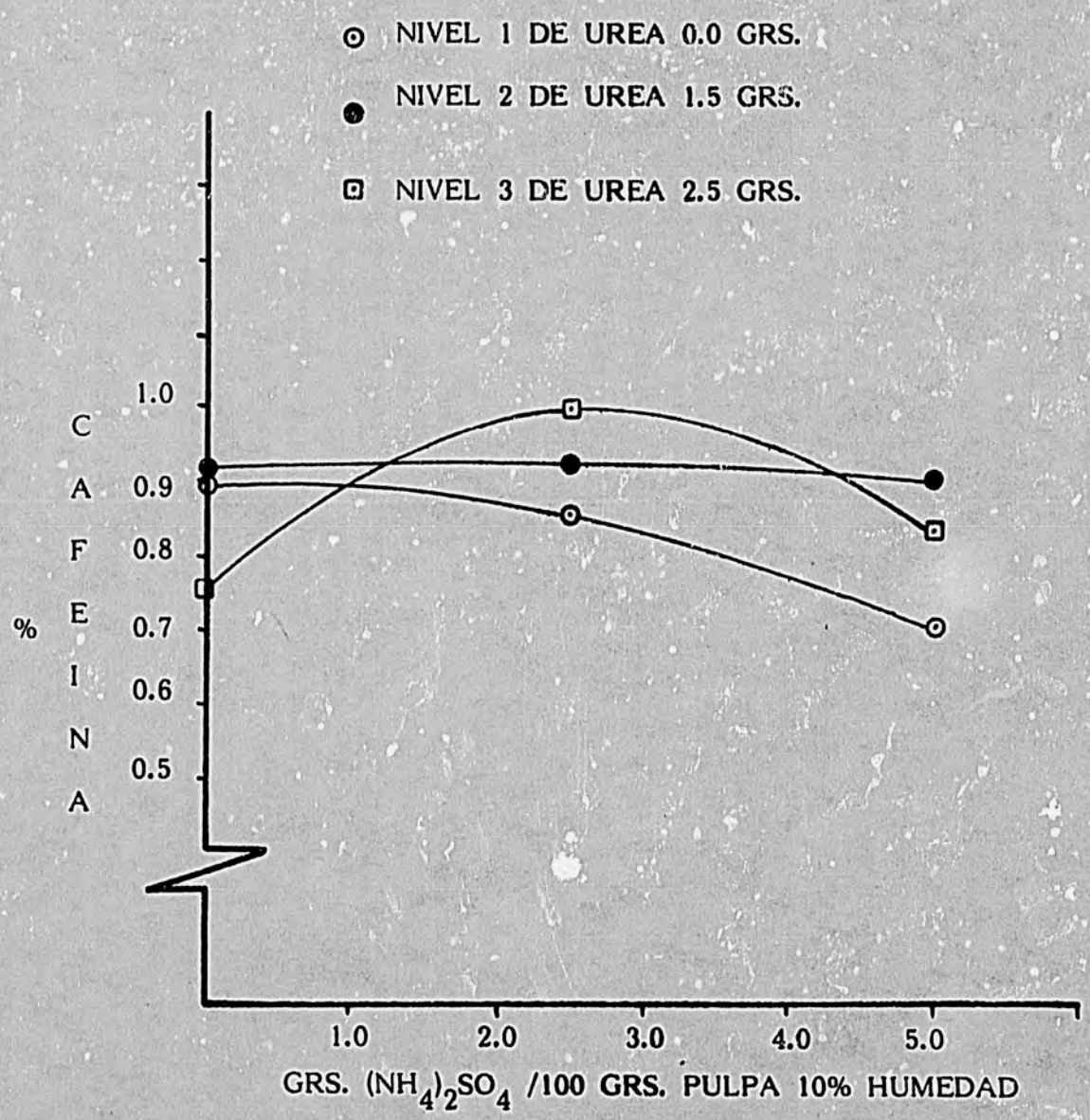
GRAFICA No. 5

Porcentaje de Cafeína total en función de las sales agregadas
(2.0 g. de K_2HPO_4 /100 g. de pulpa)



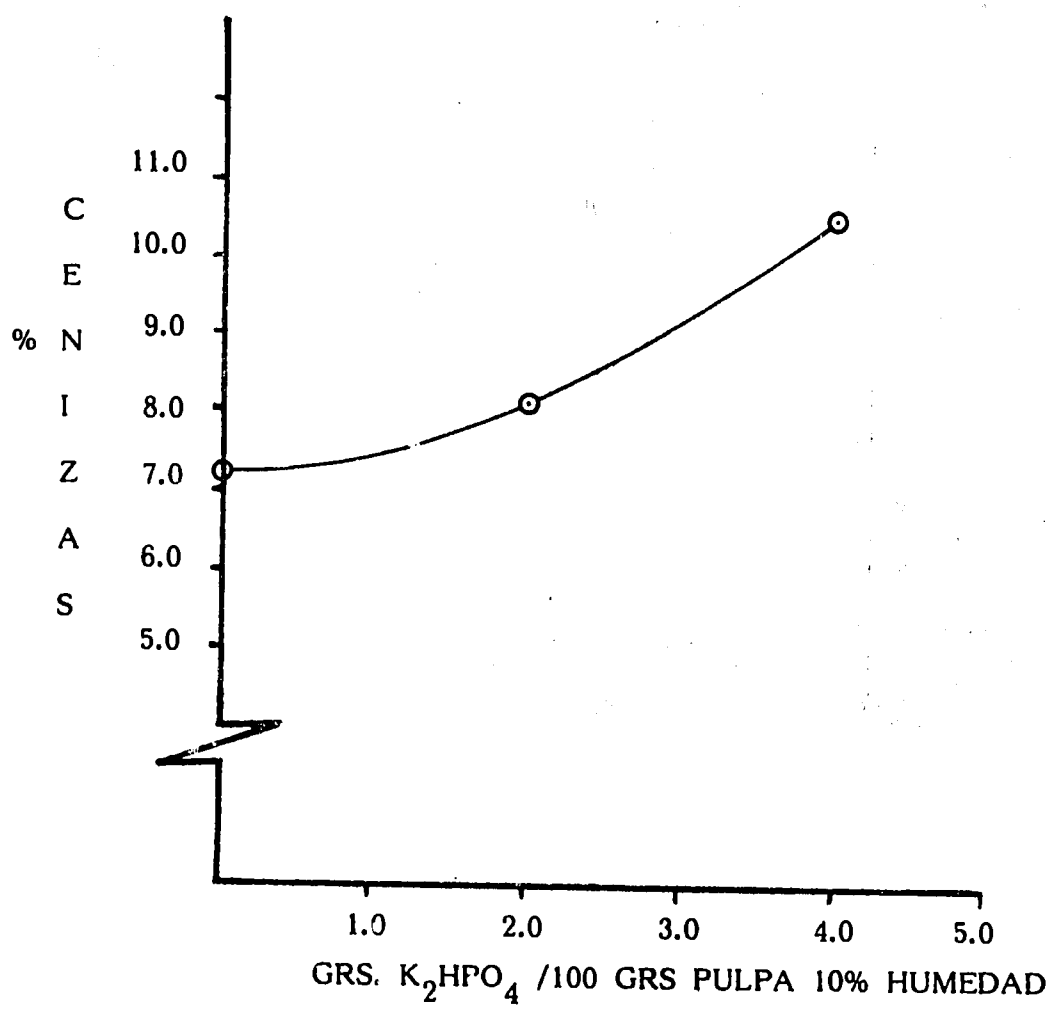
GRAFICA No. 6

Porcentaje de Cafeína Total en función de las sales agregadas
(4.0 g. de K_2HPO_4)



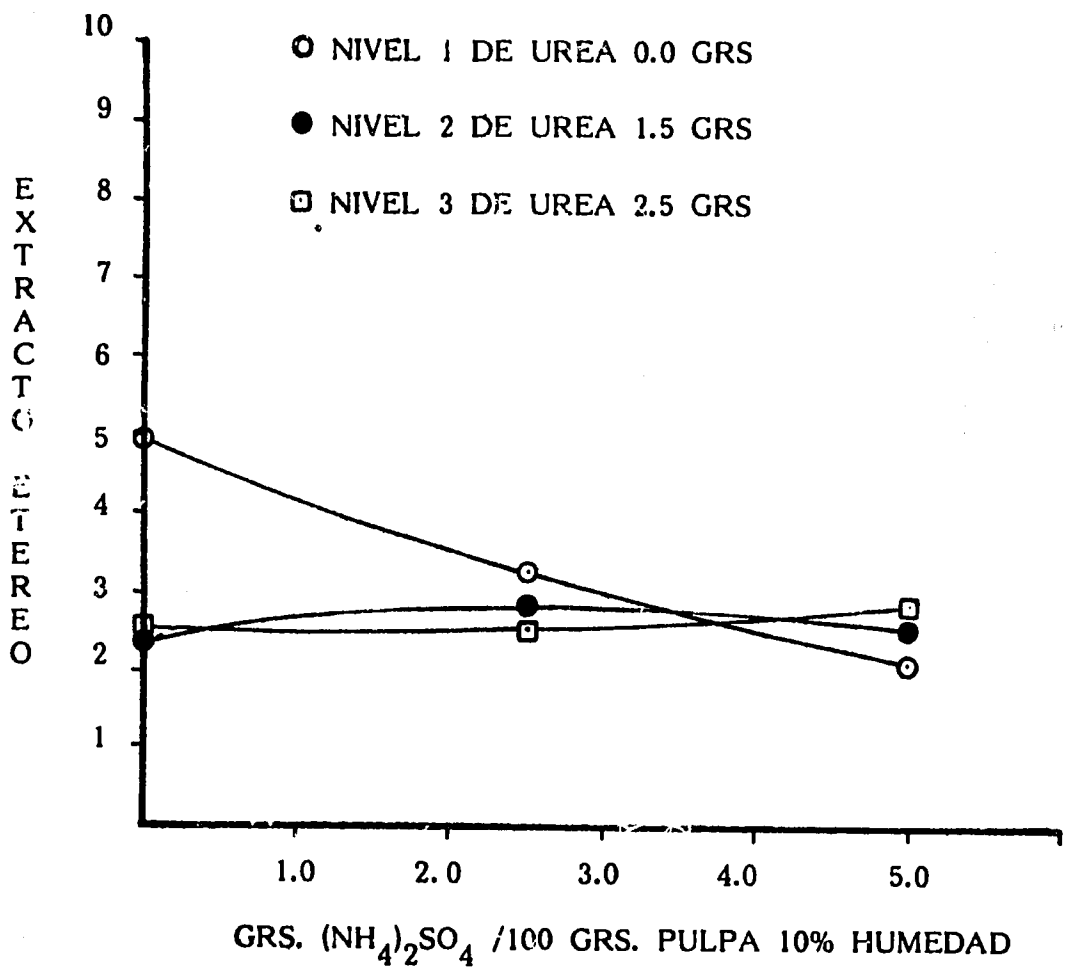
GRAFICA No. 7

Porcentaje de cenizas en función del fosfato dibásico de potasio agregado



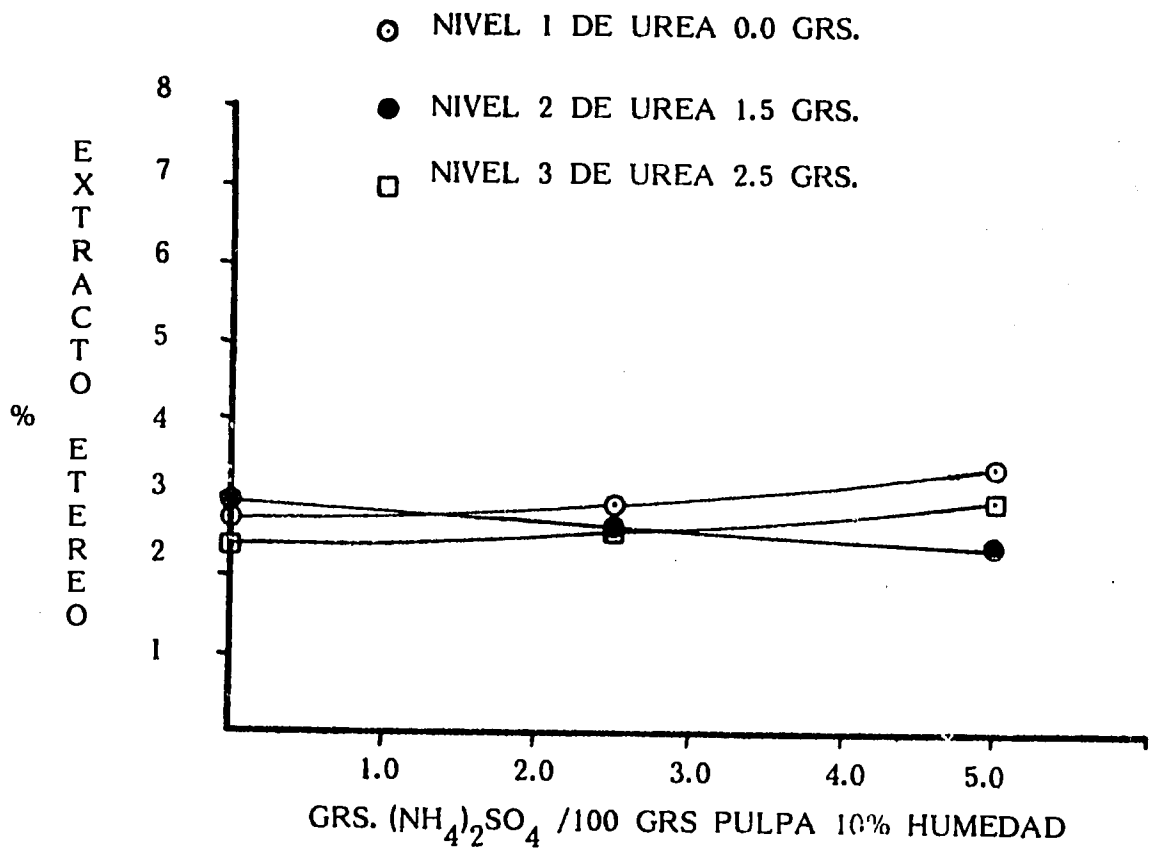
GRAFICA No. 8

Porcentaje de EXTRACTO ETEREO en función de las sales agregadas
(0.0 g. de K_2HPO_4)



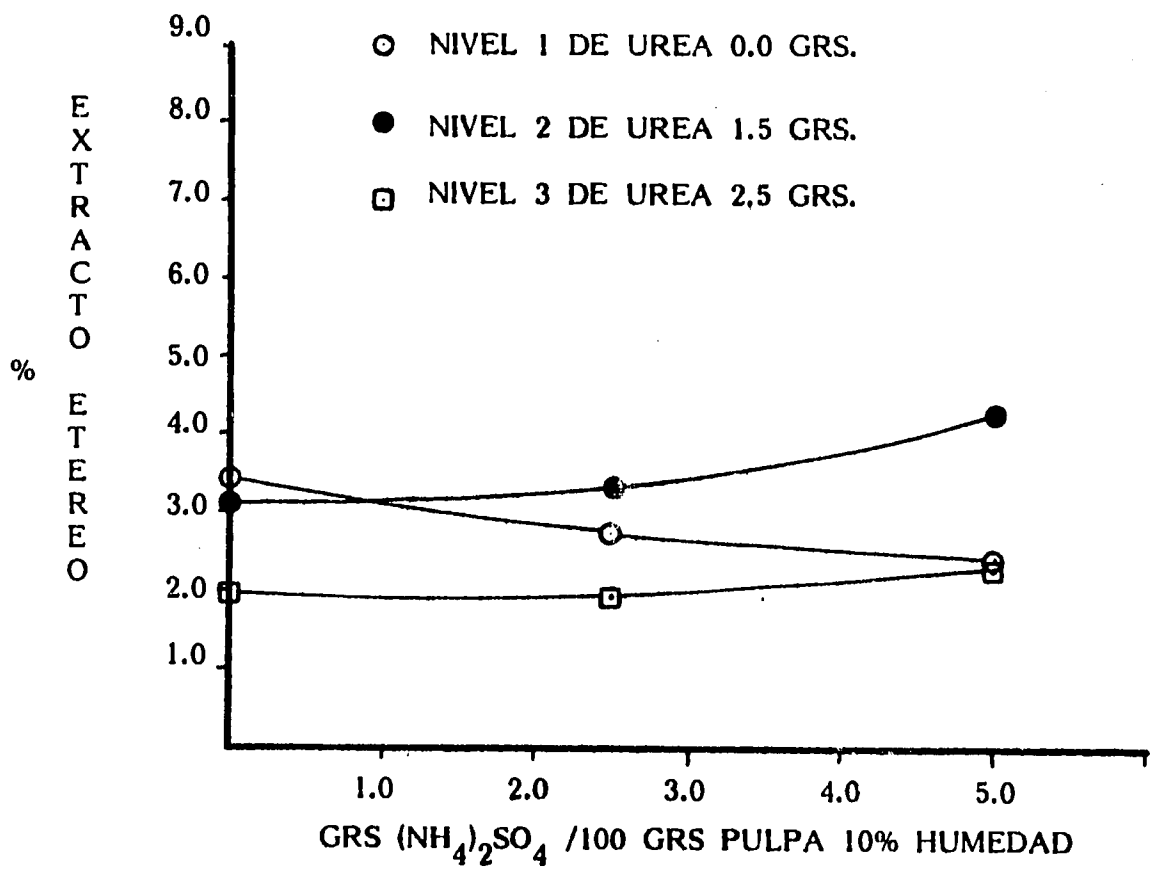
GRAFICA No. .9

Porcentaje de EXTRACTO ETEREO en función de las sales agregadas (2.0 g. de K_2HPO_4 /100 g. de pulpa)



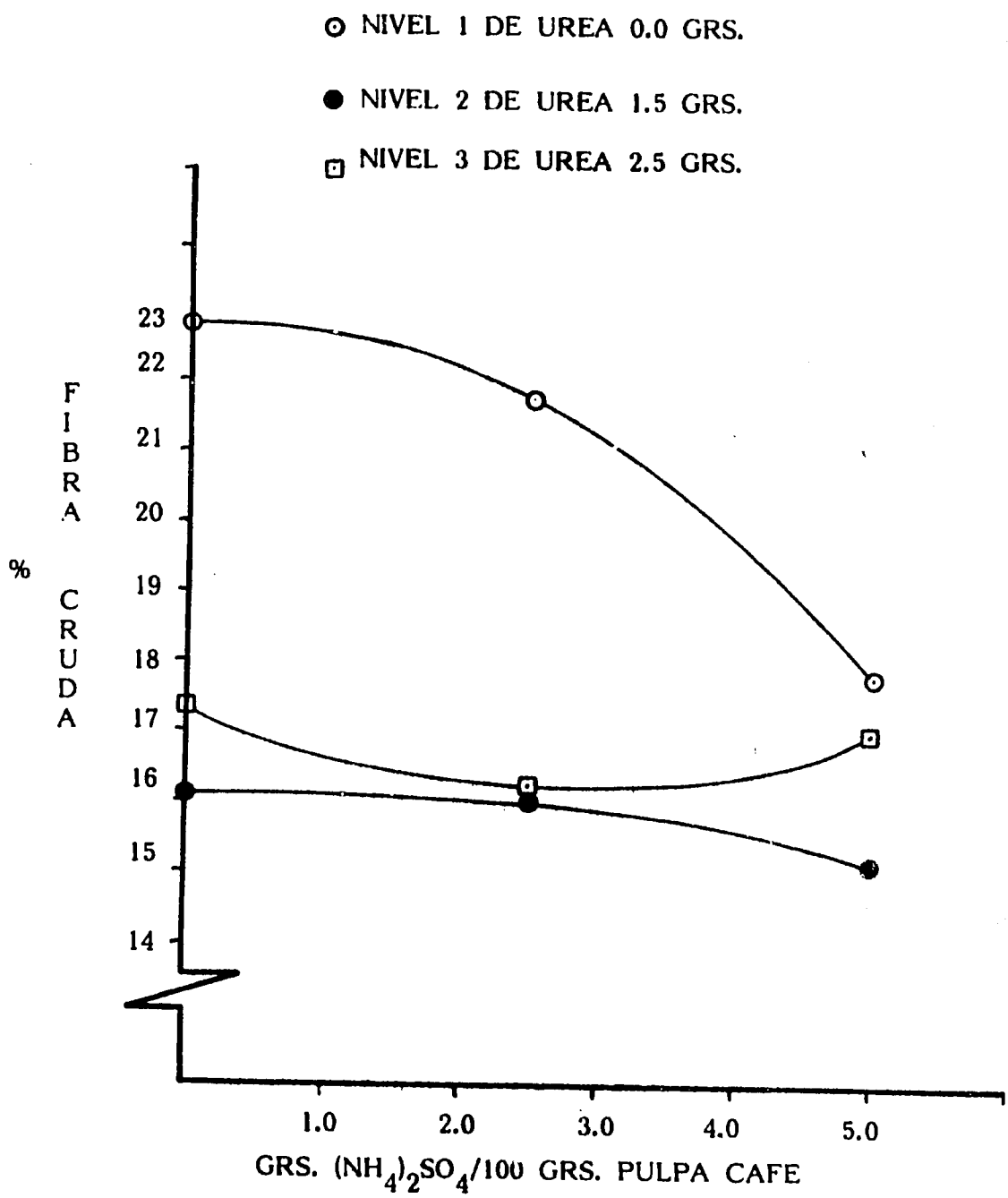
GRAFICA No. 10

Porcentaje de EXTRACTO ETEREO, en función de las sales agregadas
(4.0 g. de K_2HPO_4)



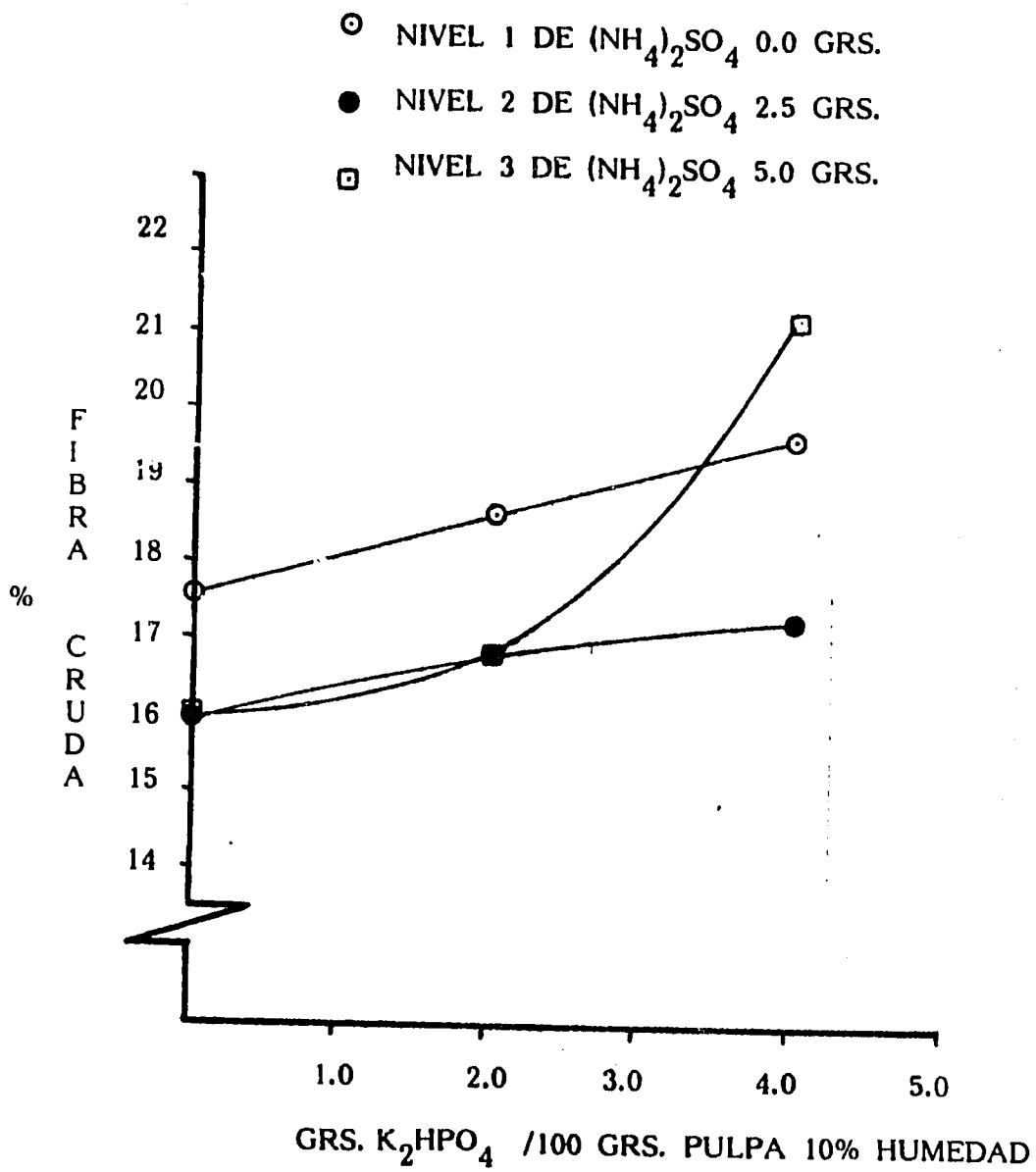
GRAFICA No. 11

Porcentaje de FIBRA CRUDA en función de las sales agregadas
(0.0 g. de K_2HPO_4)



GRAFICA No. 12

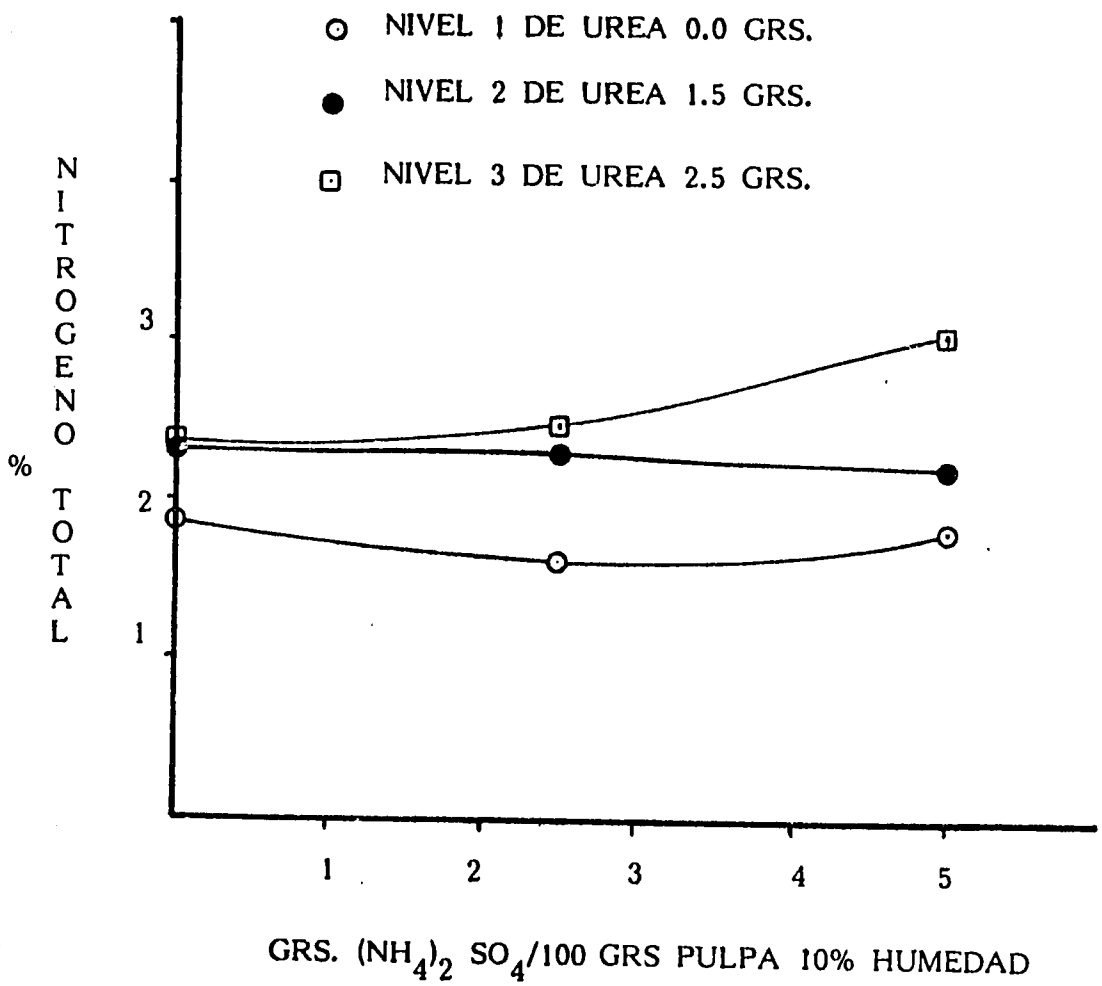
Porcentaje de FIBRA CRUDA en función de las sales agregadas



GRAFICA No. 13

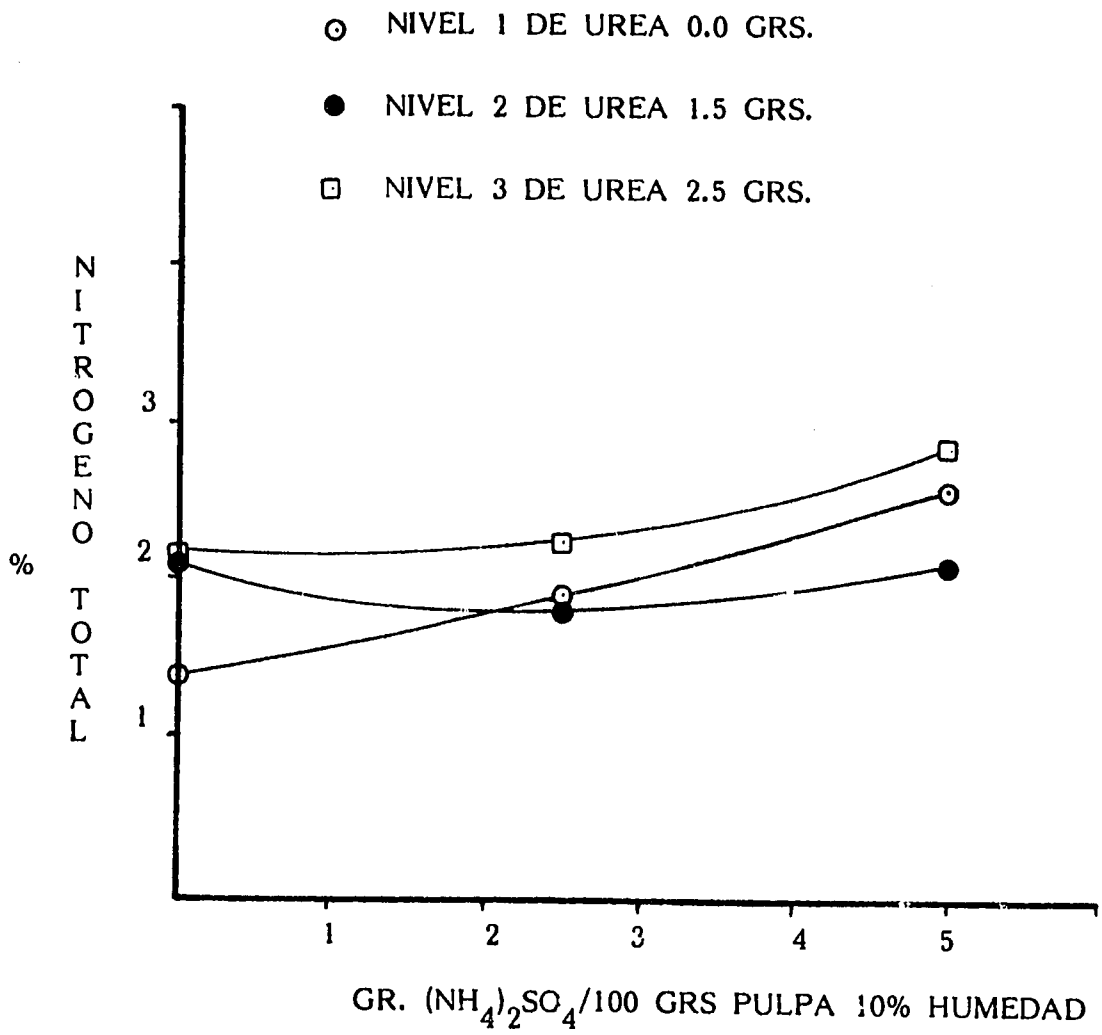
Porcentaje de NITROGENO TOTAL en función de las sales agregadas

(0.0 Grs de K_2HPO_4)/100 Grs Pulpa)



GRAFICA No. 14

Porcentaje de NITROGENO TOTAL en función de las sales agregadas
(K_2HPO_4 2.00 g./100 g. pulpa)



GRAFICA No. 15

Porcentaje de NITROGENO TOTAL en función de las sales agregadas
(4.0 Grs de K_2HPO_4)

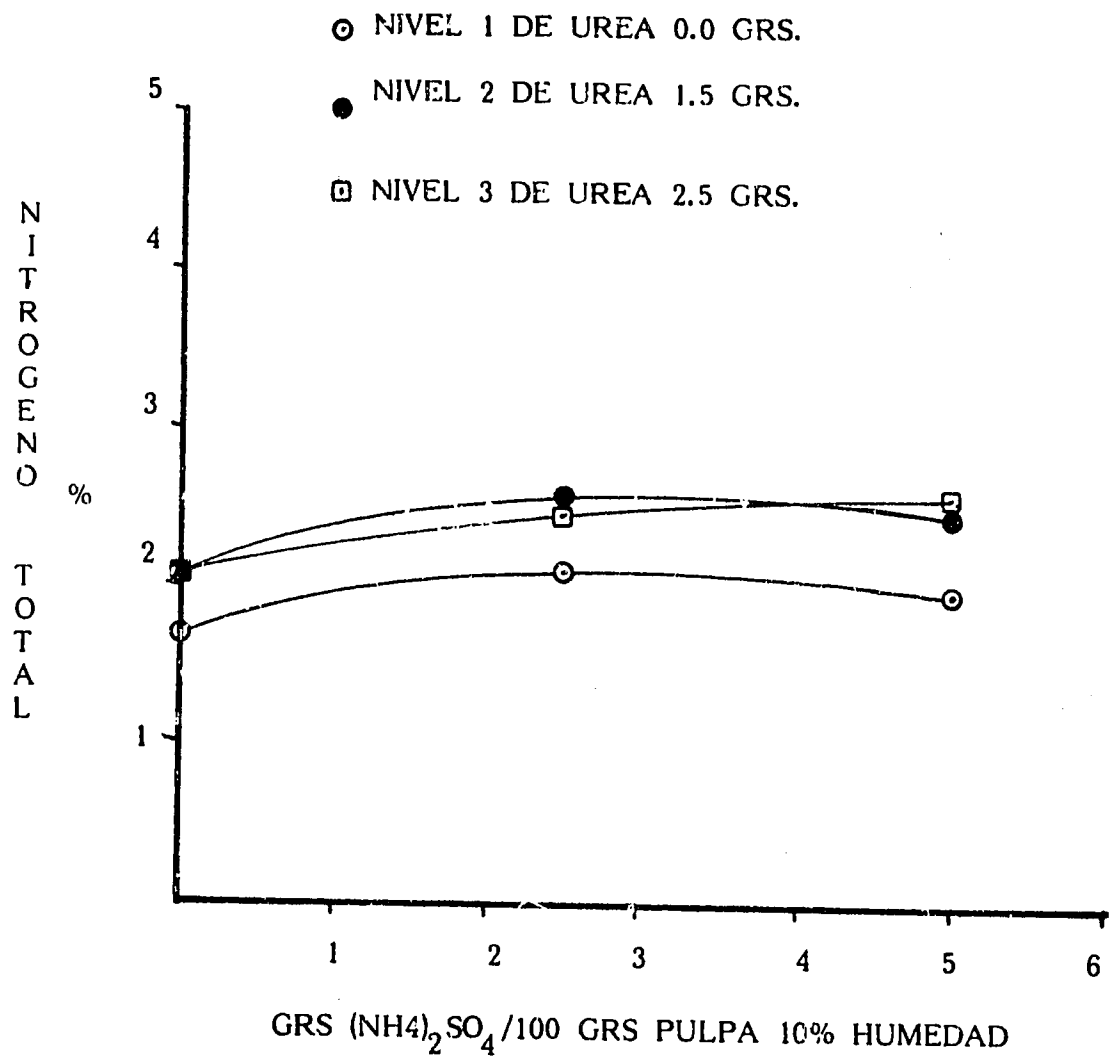
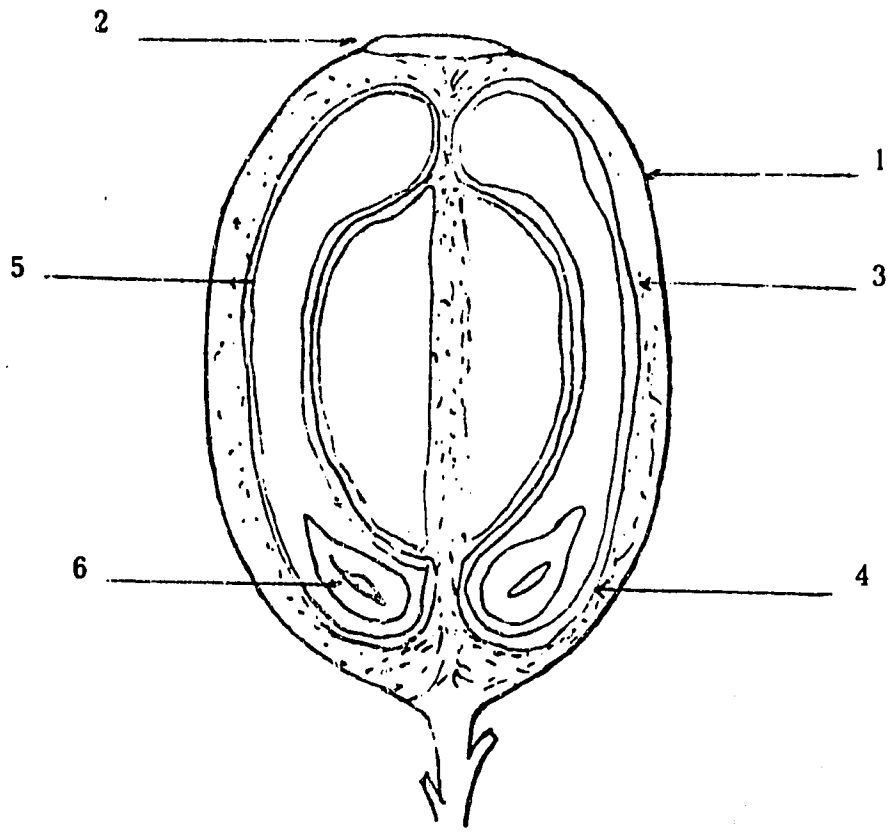


FIGURA No. 1

Corte longitudinal de un grano de café en cereza

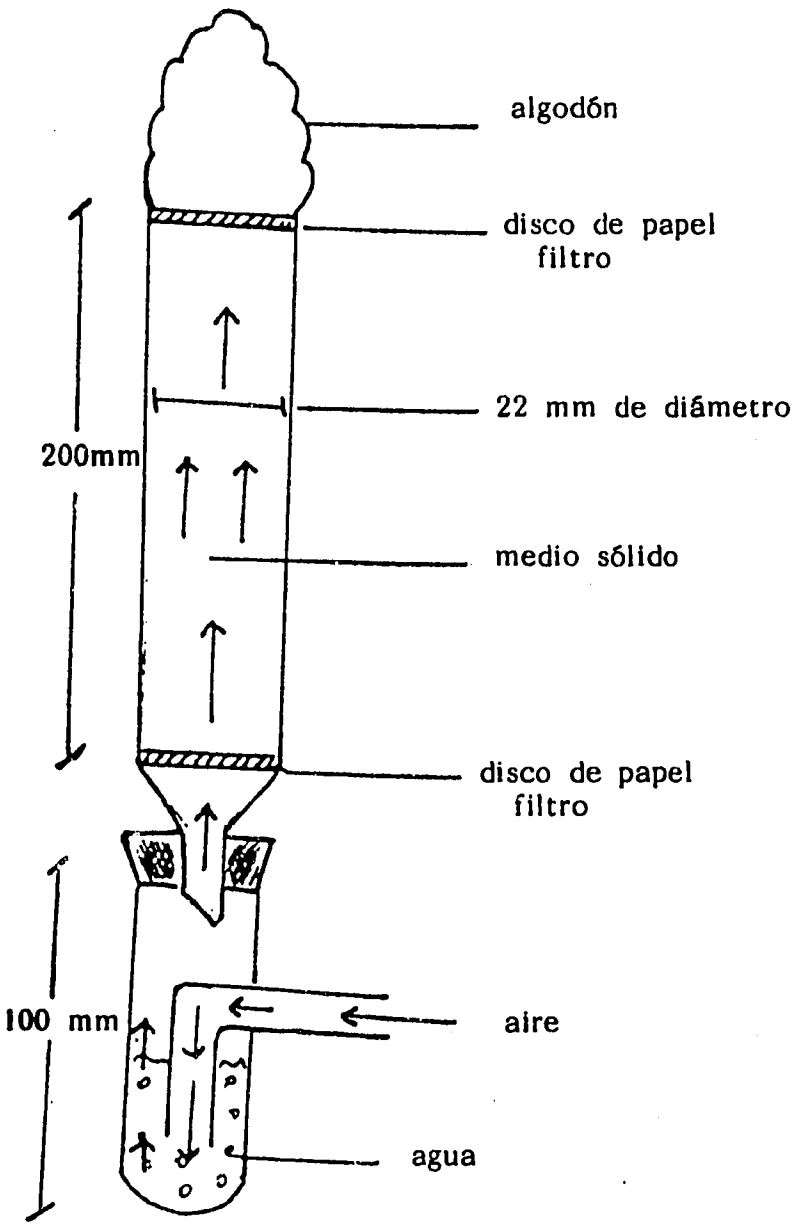


1 epicarpio (pulpa de café)
2 disco u ombligo
3 mesocarpio (mucílago)
4 endocarpio (pergamino)
5 espermoderma o película plateada
6 embrión

Tomado de "Pulpa de Café", Eds. Bressani, R. y Braham, J.

FIGURA No. 2

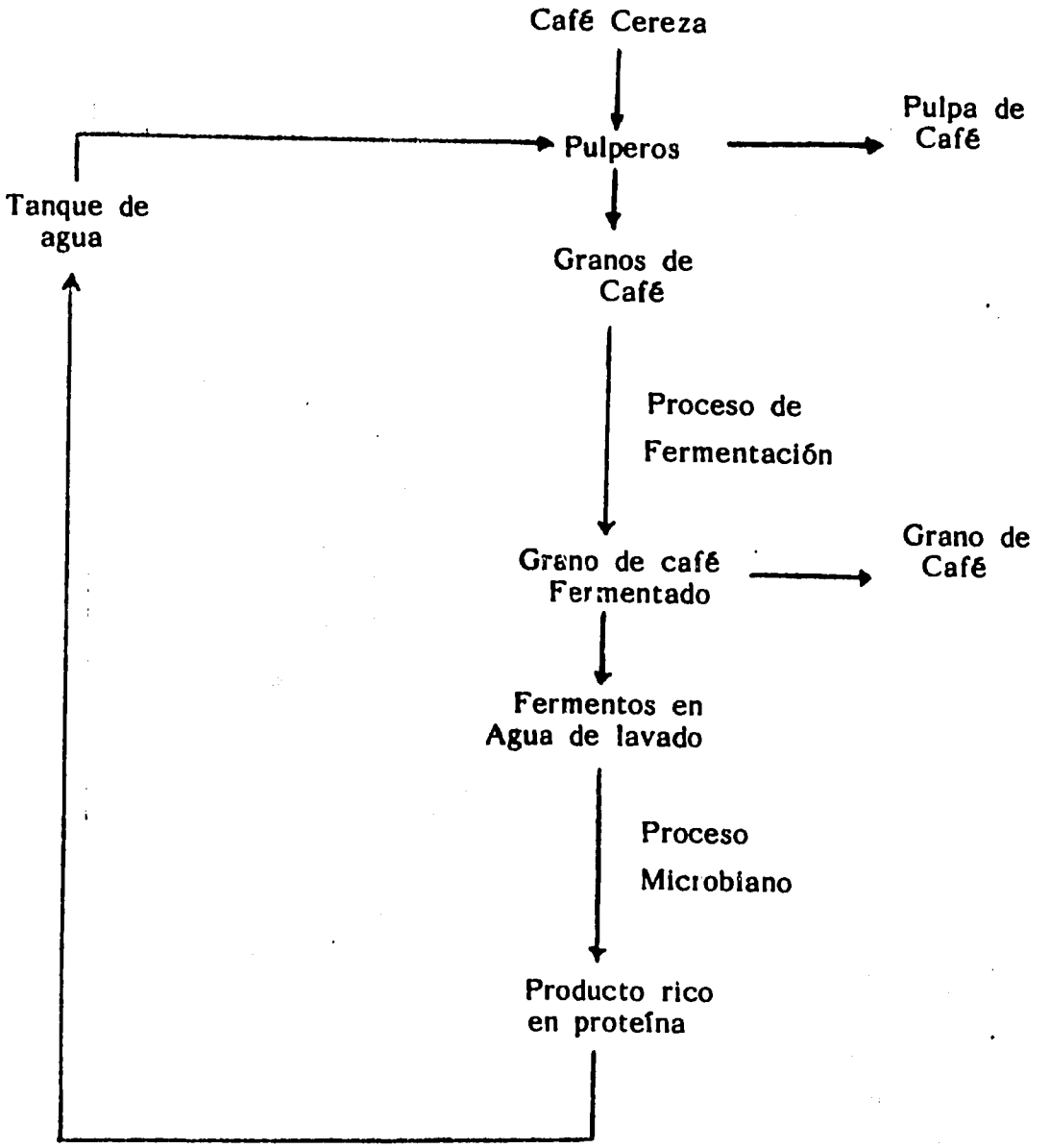
COLUMNA USADA PARA LA FERMENTACION A NIVEL DE LABORATORIO



Tomado de: Raimbault (50)

DIAGRAMA No. 1

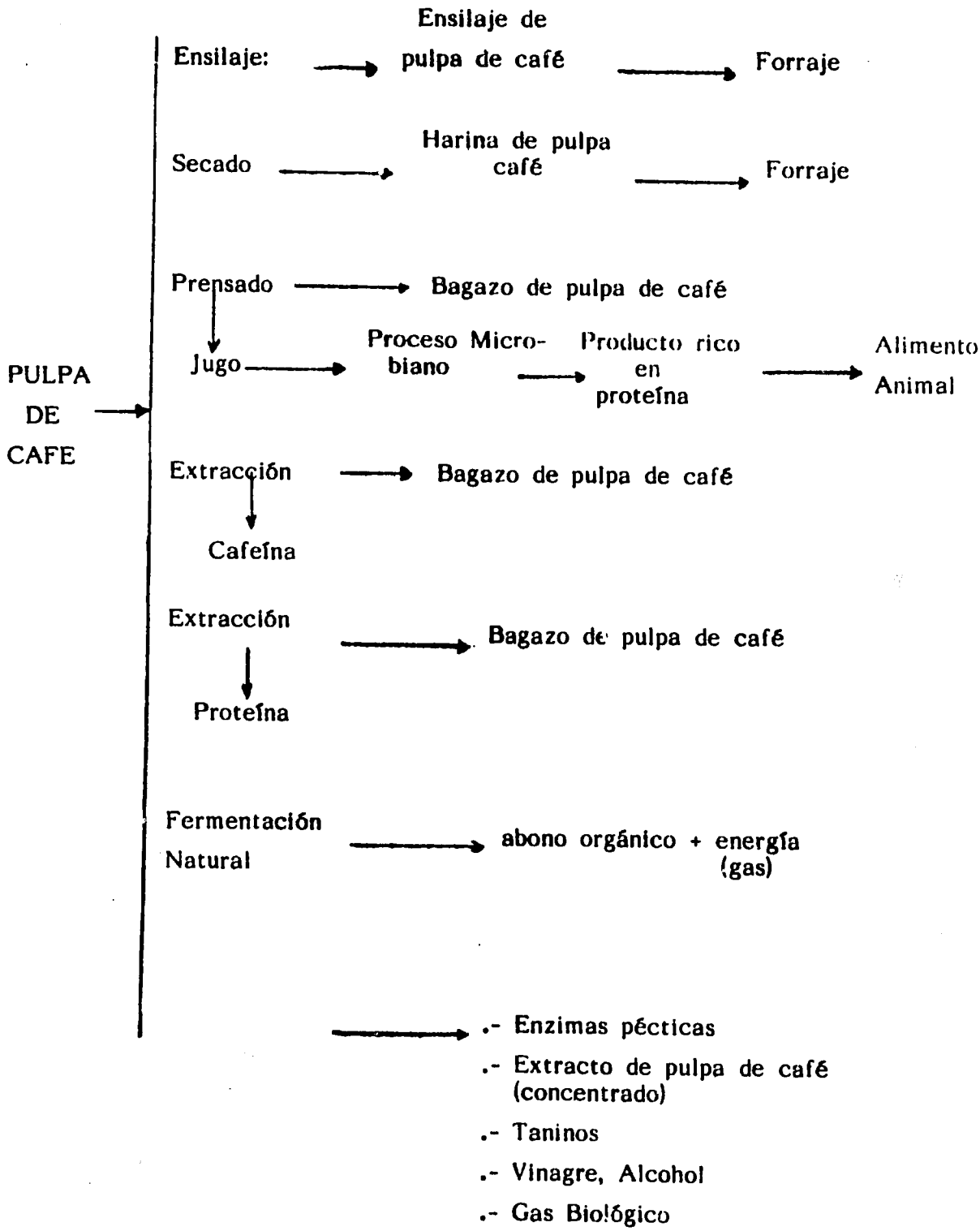
Proceso de despulpado del café: Método Húmedo



omado de "Pulpa de Café" Eds., Bressani, R. y Braham, J.

DIAGRAMA No. 2

USOS POTENCIALES DE LA PULPA DE CAFE



Tomado de "Pulpa de Café". Eds. Bressani, R. y Braham, J.

DIAGRAMA No. 3

Diagrama de flujo de la primera alternativa de fermentación

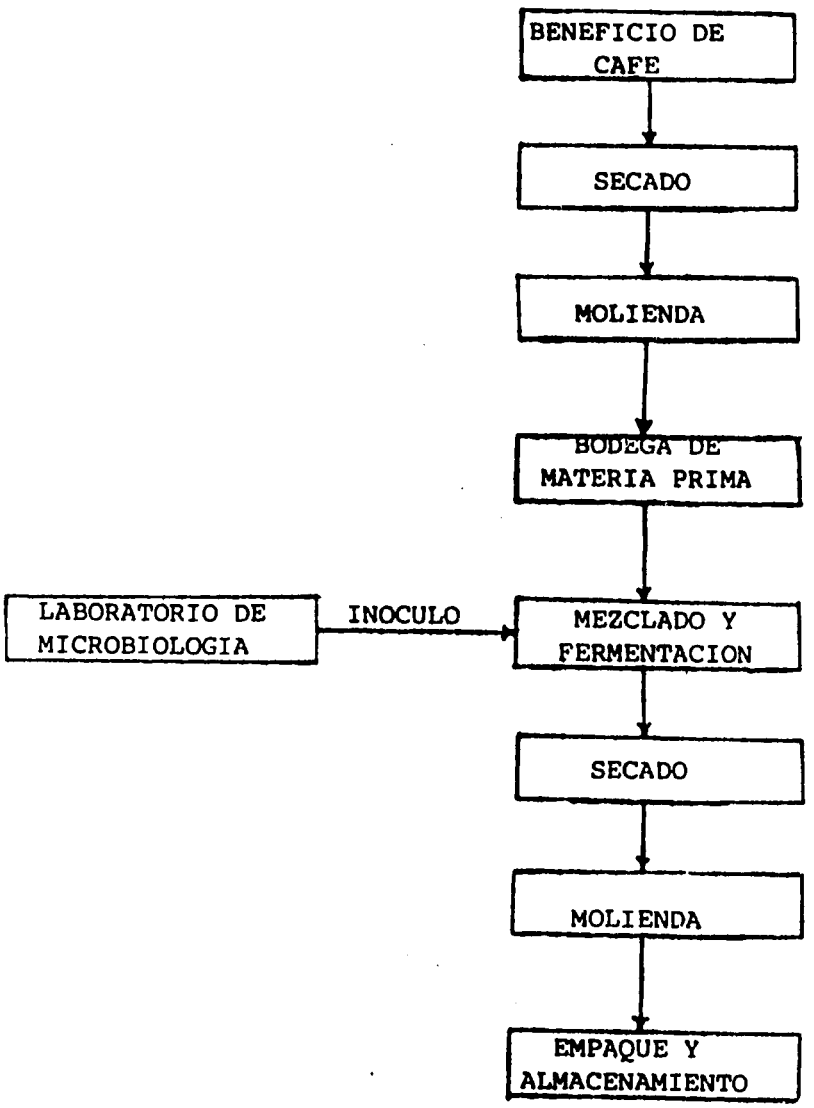
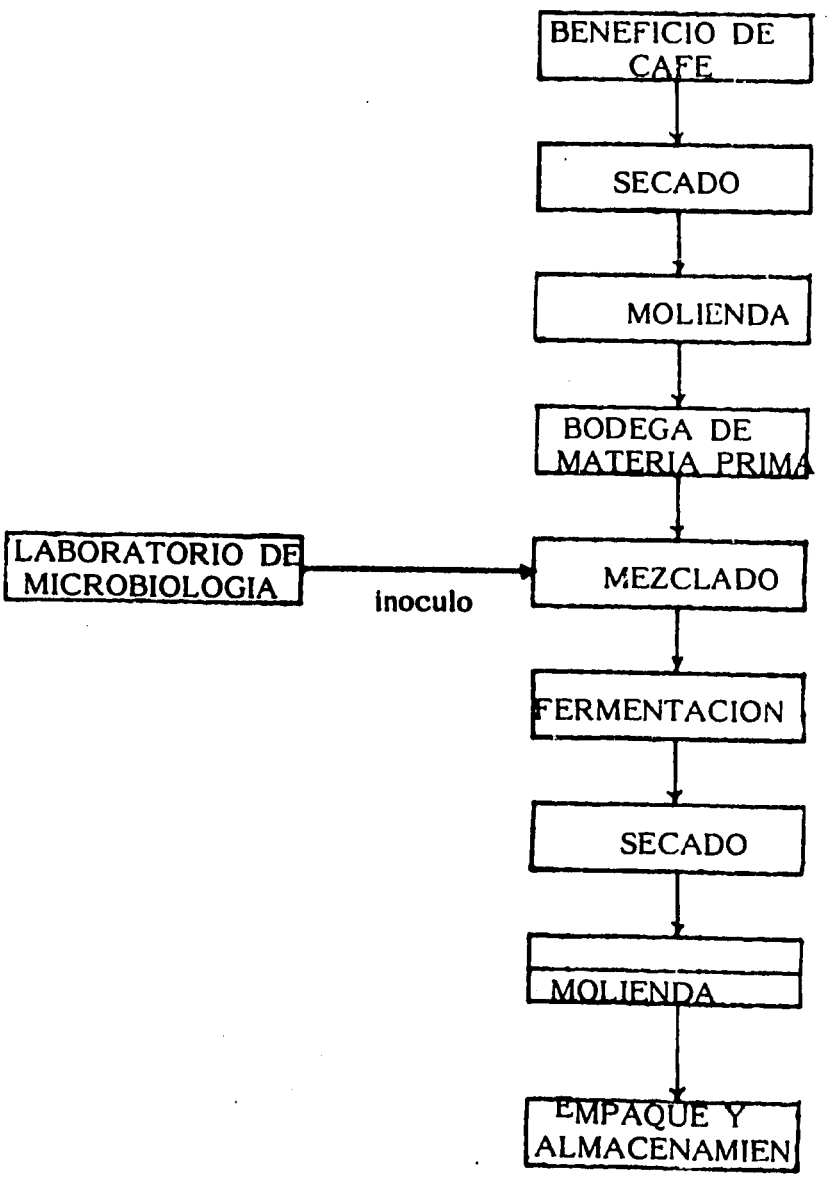


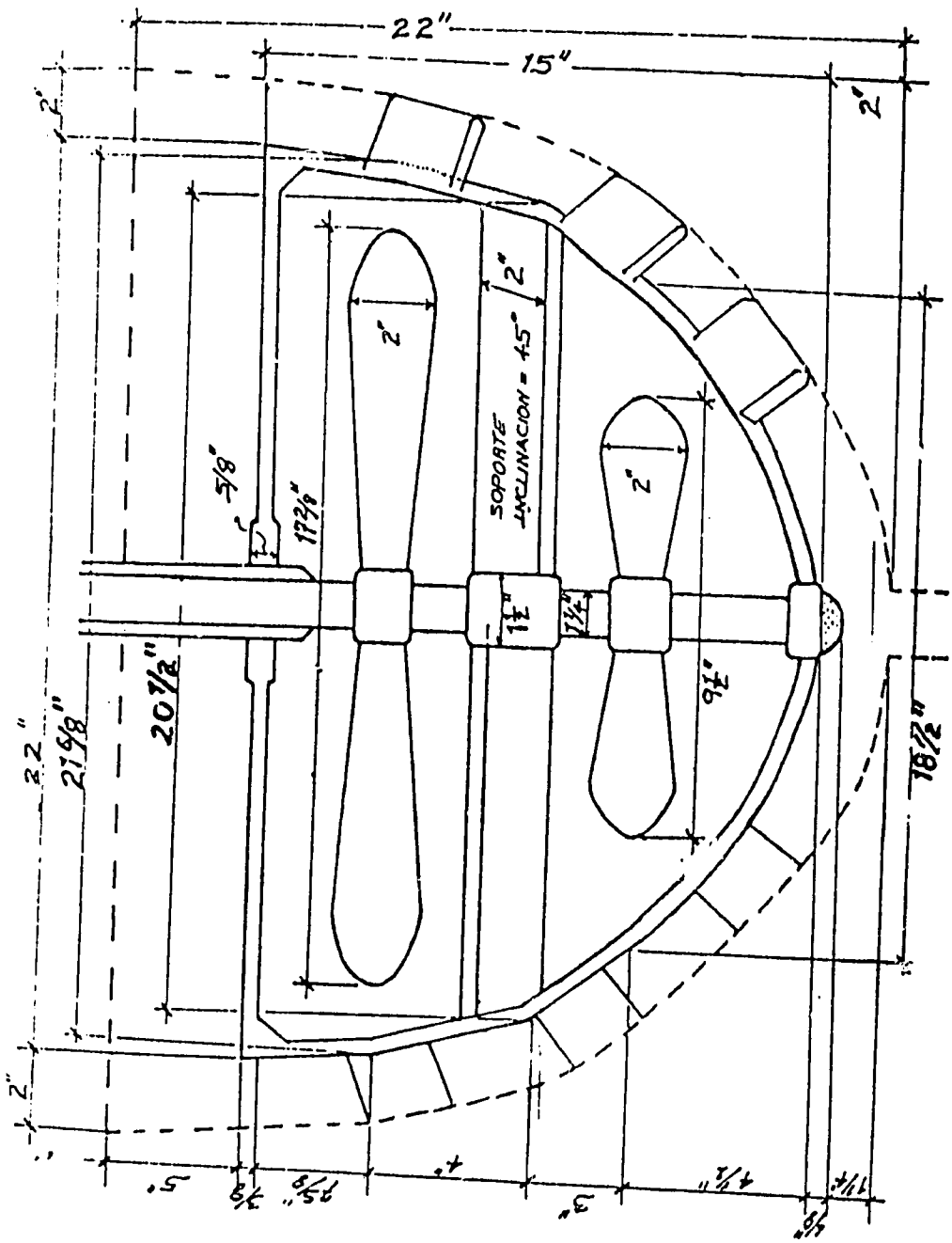
DIAGRAMA No. 4

Diagrama de flujo de la segunda alternativa de fermentación



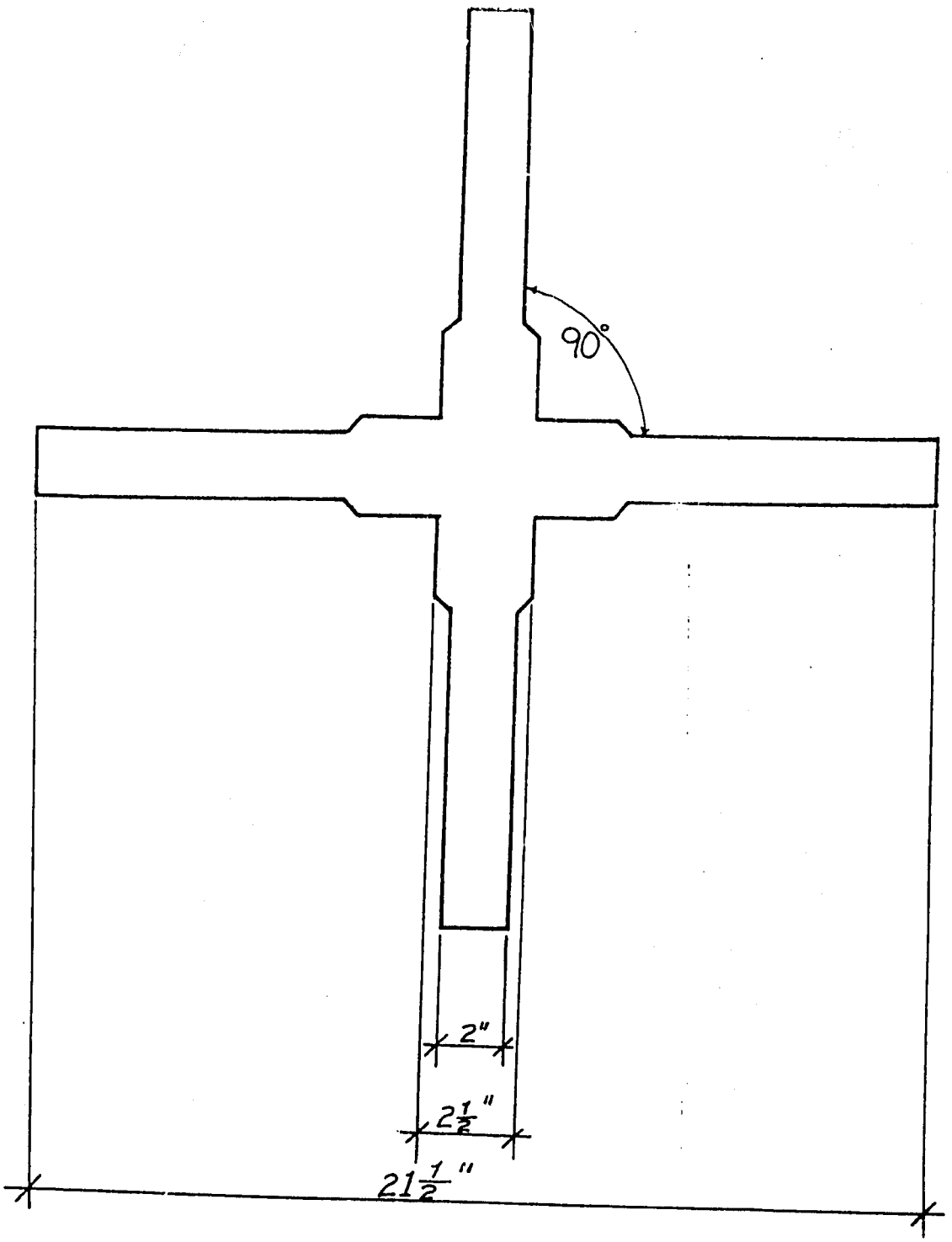
PLANO No. 1

Medidas del agitador-aireador usadas en la primera alternativa (vista de frente)



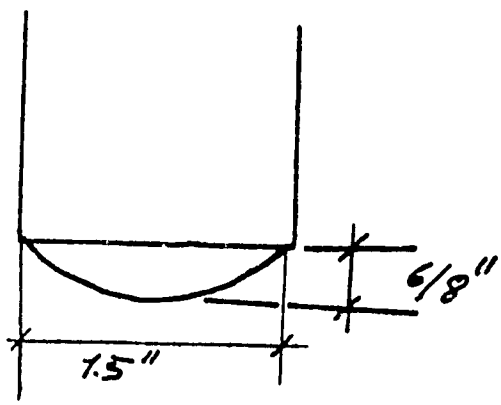
PLANO No. 2

Vista de planta del agitador-aireador de la unidad fermentadora de la primera alternativa

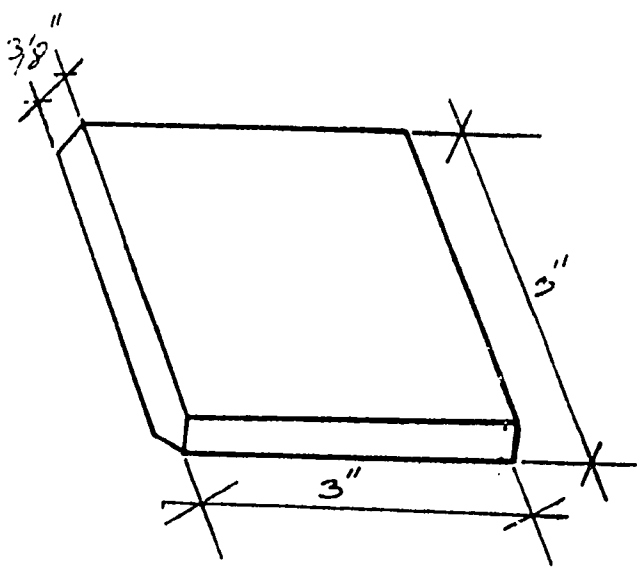


PLANO No. 3

Accesorios usados en la unidad fermentadora de la primera alternativa



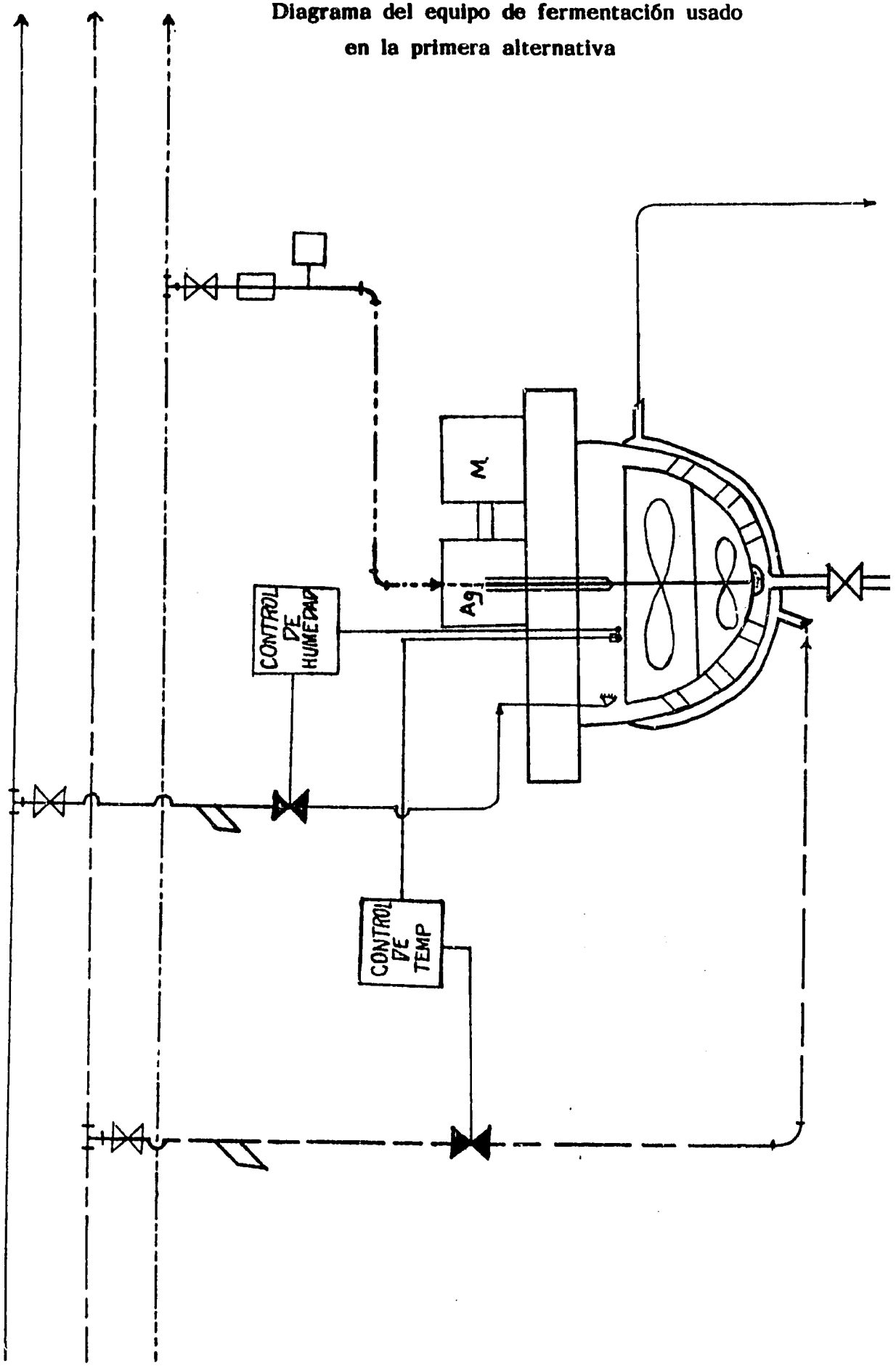
3.A
ATOMIZADOR



3.B
RASPADORES

PLANO No. 4

Diagrama del equipo de fermentación usado en la primera alternativa



SIMBOLOGIA

Simbología usada en el plano No. 4

LINEA DE TERMINALES Y SEÑALES

LINEA DE AGUA DEPURADA FRIA

LINEA DE AGUA CALIENTE

LINEA DE AIRE

VALVULA SELENOIDE

VALVULA DE GLOBO

REGULADOR DE PRESION

P

MANOMETRO (medidor de presión)

TRAMPA DE SOLIDOS

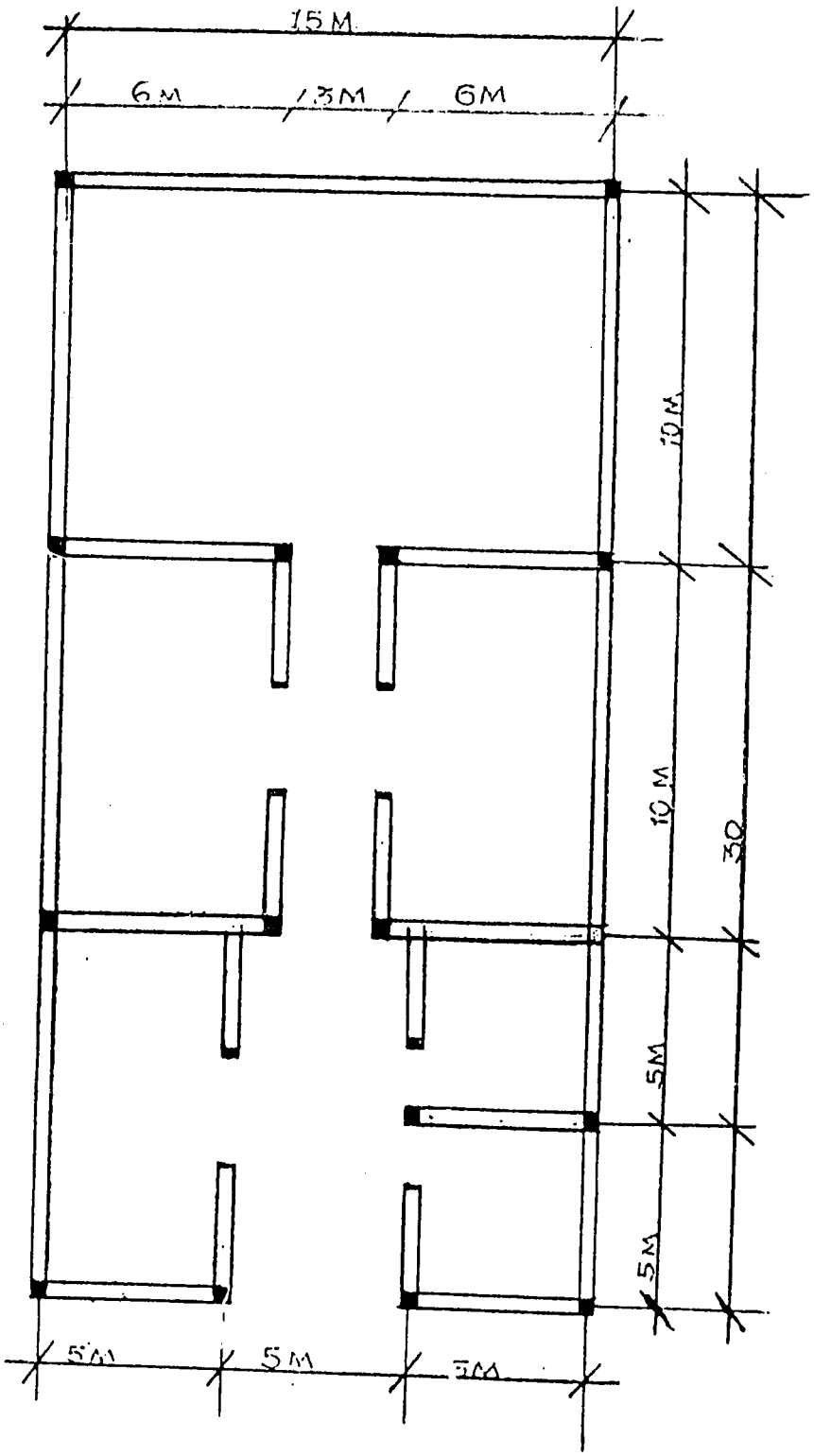
TERMINAL DE TERMOSTATO

TERMINAL DE MEDIDOR DE HUMEDAD

ATOMIZADOR DE AGUA DEPURADA

Ag AGITADOR

M MOTOR

PLANO No. 5

Infraestructura sugerida para las facilidades de Fermentación