

UNIVERSIDAD NACIONAL DE JAÉN

**CARRERA PROFESIONAL DE INGENIERÍA DE INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS**



**UNIVERSIDAD NACIONAL
DE JAÉN**

**“OBTENCIÓN DE XILOOLIGOSACÁRIDOS A PARTIR DE
LA CÁSCARA RESIDUAL DE CAFÉ (*Coffea arabica*)
VARIEDAD CATIMOR”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO
EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

AUTOR : Bach. Iris Paola Roncal Huamán

**ASESORES : Dra. Delicia Liliana Bazán Tantaleán
Ing. Mg. Sc. James Euler Villar Estrada**

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN : LI_IIA_01 - Cuantificación y
Caracterización de Biomoléculas**

JAÉN – PERÚ, JULIO, 2024

NOMBRE DEL TRABAJO

**OBTENCIÓN DE XILOOLIGOSACÁRIDOS
A PARTIR DE LA CÁSCARA RESIDUAL DE
CAFÉ (Coffea arábica) VARIEDAD CA**

AUTOR

Iris Paola Roncal Huamán

RECUENTO DE PALABRAS

14975 Words

RECUENTO DE CARACTERES

78357 Characters

RECUENTO DE PÁGINAS

82 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

2.9MB

FECHA DE ENTREGA

Jul 3, 2024 11:09 AM GMT-5

FECHA DEL INFORME

Jul 3, 2024 11:11 AM GMT-5

● 16% de similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 14% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 14% Base de datos de trabajos entregados
- 6% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● Excluir del Reporte de Similitud

- Material bibliográfico
- Coincidencia baja (menos de 15 palabras)

UN UNIVERSIDAD NACIONAL DE JAEN
Dr. Alexander Huamán Mera
Responsable de la Unidad de Investigación de la Facultad de Ingeniería



UNIVERSIDAD NACIONAL DE JAÉN

Ley de Creación N° 29304

Universidad Licenciada con Resolución del Consejo Directivo N° 002-2019-SUNEDU/CD

FORMATO 03: ACTA DE SUSTENTACIÓN

En la ciudad de Jaén, el día 12 de julio del año 2024, siendo las 11:00 horas, se reunieron los integrantes del Jurado:

Presidente: Dra. María Alina Cueva Rios
Secretario: Dr. Ernesto Hernández Martínez
Vocal: Dr. Luis Arturo Gil Ramírez, para evaluar la Sustentación de:

- () Trabajo de Investigación
(X) Tesis
() Trabajo de Suficiencia Profesional

Titulado: "OBTENCIÓN DE XILOOLIGOSACÁRIDOS A PARTIR DE CÁSCARA RESIDUAL DE CAFÉ (*Coffea arábica*) VARIEDAD CATIMOR".

presentado por la Bach. Iris Paola Roncal Huamán de la Escuela Profesional de Ingeniería de Industrias Alimentarias.

Después de la sustentación y defensa, el Jurado acuerda:

(X) Aprobar () Desaprobar (X) Unanimidad () Mayoría

Con la siguiente mención:

- | | | |
|----------------|------------|--------|
| a) Excelente | 18, 19, 20 | () |
| b) Muy bueno | 16, 17 | (17) |
| c) Bueno | 14, 15 | () |
| d) Regular | 13 | () |
| e) Desaprobado | 12 ó menos | () |

Siendo las ^{12:00}..... horas del mismo día, el Jurado concluye el acto de sustentación confirmando su participación con la suscripción de la presente.

Jaén, 12 de julio de 2024



Dra. María Alina Cueva Rios
Presidente



Dr. Ernesto Hernández Martínez
Secretario



Dr. Luis Arturo Gil Ramírez
Vocal

ABREVIATURAS

CRC	Cáscara residual de café
TH	Tratamiento hidrotermal
XOS	Xilooligosacáridos
X1	Xilosa
X2	Xilobiosa
X3	Xilotriosa
X4	Xilotetraosa
UF	Ultrafiltración
DF	Diafiltración
NF	Nanofiltración
DBCA	Diseño de bloques completamente al azar
HPLC	Sistema de cromatografía líquida de alta resolución
T1	Primer tratamiento
T2	Segundo tratamiento
T3	Tercer tratamiento
T4	Cuarto tratamiento
FL	Fracción líquida
FS	Fracción sólida
PUF	Permeado de la ultrafiltración
RUF	Retentado de la ultrafiltración
DR	Dilución del retentado
PDF	Permeado de la diafiltración
RDF	Retentado de la diafiltración
MP	Mezcla de permeados
PNF	Permeado de la nanofiltración
RNF	Retentado de la nanofiltración

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	4
ÍNDICE DE TABLAS	6
RESUMEN.....	7
ABSTRACT	8
I. INTRODUCCIÓN	9
II. MATERIAL Y MÉTODOS.....	12
2.1. Lugar de ejecución	12
2.2. Materiales	12
2.3. Población, muestra y muestreo	14
2.4. Métodos, técnicas, procedimientos e instrumentos de recolección de datos .	14
2.4.1. <i>Obtención y caracterización composicional de la cáscara residual de</i> <i>café</i>	15
2.4.3. <i>Tratamiento hidrotermal para la producción de XOS</i>	18
2.4.4. <i>Variables de estudio</i>	25
2.4.5. <i>Diseño experimental</i>	25
2.4.6. <i>Análisis de datos</i>	27
III. RESULTADOS.....	28
3.1. Caracterización química de la cáscara residual de café	28
3.2. Producción de XOS mediante tratamiento hidrotermal en reactor Parr de 1 L y análisis de XOS por HPLC.....	29
3.3. Concentración de fenólicos	34

3.4. Composición de sólidos residuales e hidrólisis enzimática	35
3.5. Purificación de XOS utilizando membranas	37
IV. DISCUSIÓN	42
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	46
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48
DEDICATORIA.....	54
AGRADECIMIENTO.....	55
ANEXOS	56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Acondicionamiento de la cáscara residual de café (CRC), extracción sólido-líquido y caracterización química de CRC libre de extractivos	15
Figura 2 Tratamiento hidrotermal de la cáscara residual de café.....	20
Figura 3 Proceso de ultrafiltración, diafiltración y nanofiltración del extracto de XOS obtenido del tratamiento hidrotermal.....	23
Figura 4 Efecto del tratamiento hidrotermal de la cáscara residual de café sobre la extracción de xilosa (X1), xilobiosa (X2), xilotriosa (X3) y xilotetraosa (X4)	30
Figura 5 Curva de Calibración ácido Gálico.....	34
Figura 6 Concentración de XOS a través del sistema de purificación de membranas: ultrafiltración (UF), diafiltración (DF) y nanofiltración (NF).....	38
Figura 7 Concentraciones de XOS obtenidas en la ultrafiltración, diafiltración y nanofiltración de T3	40
Figura 8 Concentraciones de XOS obtenidas en la ultrafiltración, diafiltración y nanofiltración de T4.....	40
Figura 9 Lavado de los granos de café.....	56
Figura 10 Beneficio húmedo del café	56
Figura 11 Cáscara de café lista para secar en estufa	57
Figura 12 Cáscara de café en proceso de secado a 50 °C	57
Figura 13 Tamices para seleccionar el tamaño de partícula de cáscara de café.....	58
Figura 14 Cáscara de café seca, molturada y tamizada.....	58
Figura 15 Muestras para el proceso de extracción	59
Figura 16 Batería soxhlet de extracción con etanol	59
Figura 17 Batería soxhlet de extracción con agua destilada	60
Figura 18 Extracto líquido (1 extracción con etanol y 3 extracciones con agua)	60

Figura 19 Material sólido insoluble en etanol y agua, secado en estufa a 60 °C.....	61
Figura 20 Muestras libres de extractivos se almacenó en envases herméticos	61
Figura 21 Baño maría de las muestras por triplicado con H ₂ SO ₄ al 72% (p/p)	62
Figura 22 Autoclave de las muestras por triplicado con H ₂ SO ₄ al 72% (p/p)	62
Figura 23 Filtrado utilizando una bomba de vacío.....	63
Figura 24 Filtrado utilizando bomba de vacío y crisoles Gooch N° 3.....	63
Figura 25 Análisis de azúcares por HPLC	64
Figura 26 Análisis de lignina soluble y fenoles por espectrofotometría UV-Visible	64
Figura 27 Determinación de cenizas.....	65
Figura 28 Dilución 40 g de muestra/400 mL de agua para el tratamiento hidrotermal	65
Figura 29 Tratamiento hidrotermal en Reactor Parr de 1L.....	66
Figura 30 Análisis en HPLC de la fracción líquida recuperada del tratamiento hidrotermal.....	66
Figura 31 Incubadora con agitación - hidrolisis enzimática de la fracción sólida.....	67
Figura 32 Sistema de filtración acoplado a una línea de nitrógeno	67
Figura 33 Membranas de Ultrafiltración (color crema) y Nanofiltración (color lila).....	68
Figura 34 Proceso de ultrafiltración, diafiltración y nanofiltración	68
Figura 35 Fracción retenida (oscuro) y fracción permeada (claro) en la NF.....	69
Figura 36 Análisis de la concentración de azúcares y XOS en HPLC.....	69
Figura 37 Cromatogramas de las concentraciones detectadas por HPLC.....	70

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Descripción de las variables de estudio.....	26
Tabla 2 Descripción del DBCA y sus factores del tratamiento hidrotermal	27
Tabla 3 Descripción del DBCA y sus factores del sistema de filtrado con membranas	25
Tabla 4 Caracterización química de la cáscara residual de café libre de extractivos	28
Tabla 5 Análisis de Varianza para xilosa	31
Tabla 6 Análisis de Varianza para xilobiosa	32
Tabla 7 Análisis de Varianza para xilotriosa.....	33
Tabla 8 Análisis de Varianza para xilotetraosa	33
Tabla 9 Cuantificación de compuestos fenólicos	35
Tabla 10 Caracterización química de los residuos sólidos.....	36
Tabla 11 Azúcares liberados en la hidrólisis enzimática de los sólidos.....	37
Tabla 12 Análisis de Varianza para xilotriosa.....	39

RESUMEN

La cáscara residual de café (*Coffea arabica*), variedad catimor, un subproducto lignocelulósico que representa el 40% del grano durante el beneficio húmedo, se evaluó para determinar las mejores condiciones de producción de xilooligosacáridos (XOS). Los XOS son oligosacáridos lineales de D-xilosa unidos por enlaces glicosídicos β -1,4, incluyen xilosa (X1), xilobiosa (X2), xilotriosa (X3) y xilotetraosa (X4). Los XOS con menos de cuatro monómeros son importantes como prebióticos. Se planteó un tratamiento hidrotermal a 180 °C y 10 bar de presión en un reactor Parr, seguido de purificación y concentración mediante membranas poliméricas de ultrafiltración y nanofiltración. Se obtuvieron 14 g/kg de X2 a los 60 minutos, 0.70 g/kg de X3 a los 45 minutos y 3.67 g/kg de X4 a los 30 minutos. Con la adición de ácido cítrico al 7% (p/p) en el tratamiento hidrotermal, se logró 16 g/kg de X1 a los 30 minutos y 7 g/kg de X2 a los 15 minutos. La purificación con membranas poliméricas, permitió obtener 6.22 g/L de X1 y 5.03 g/L de XOS (X2, X3 y X4). Estos resultados muestran que la cáscara residual de café es una fuente prometedora para la producción de biomoléculas valiosas, destacando su potencial económico.

Palabras clave: *cáscara de café, xilano, hemicelulosa, xilooligosacáridos, prebiótico.*

ABSTRACT

Residual coffee (*Coffea arabica*) husk, catimor variety, a lignocellulosic by-product that represents 40% of the bean during wet milling, was evaluated to determine the best conditions for xylooligosaccharides (XOS) production. XOS are linear D-xylose oligosaccharides linked by β -1,4-glycosidic bonds, include xylose (X1), xylobiose (X2), xylotriose (X3) and xyloetraose (X4). XOS with less than four monomers are important as prebiotics. Hydrothermal treatment at 180 °C and 10 bar pressures in a Parr reactor was considered, followed by purification and concentration by ultrafiltration and nanofiltration polymeric membranes. 14 g/kg of X2 was obtained at 60 min, 0.70 g/kg of X3 at 45 min and 3.67 g/kg of X4 at 30 min. With the addition of 7% (w/w) citric acid in the hydrothermal treatment, 16 g/kg of X1 at 30 minutes and 7 g/kg of X2 at 15 minutes were achieved. Purification with polymeric membranes yielded 6.22 g/L of X1 and 5.03 g/L of XOS (X2, X3 and X4). These results show that residual coffee husk is a promising source for the production of valuable biomolecules, highlighting its economic potential.

Keywords: *coffee husk, xylan, hemicellulose, xylooligosaccharides, prebiotic.*

I. INTRODUCCIÓN

El café (*Coffea arábica*) representa el 70% de café en el mundo, es la variedad más cultivada y consumida en América del Sur; de hecho, actualmente sólo el café arábica (*Coffea arabica*) y café robusta (*Coffea canephora*) tienen un valor económico importante (Batista y de Souza, 2016). El Instituto Nacional de Estadística e Informática (2023) reportó que a nivel nacional la producción de café totalizó 82 734 toneladas. El arábica tiene una calidad superior debido a la síntesis de compuestos que brindan características sensoriales apreciables durante el proceso de tostado (Atabani et al., 2019). El procesamiento del café arábica generalmente emplea el beneficio húmedo, excepto en países como Brasil, Etiopía y Yemen, donde el despulpado se realiza mediante una máquina despulpadora que exprime las cerezas entre superficies fijas y móviles, eliminando por un lado la cáscara (la piel exterior y el mesocarpio), obteniendo los granos de café, envueltos en su cubierta de pergamino mucilaginoso (Batista y de Souza, 2016). Rebollo-Hernanz et al. (2021) indicaron que la cáscara residual del café contiene la piel (pericarpio), la pulpa (mesocarpio), una fracción de mucílago (capa de pectina), y partes de pergamino debido al despulpado.

Respecto al aprovechamiento del grano del café durante el beneficio húmedo, apenas el 60% del grano es utilizado; por tanto, los excedentes como la piel exterior, pulpa y mucílago terminan generando residuos agroindustriales (Fernández-Cortés et al., 2020). La valorización de estos subproductos sería una forma innovadora y ecológica de contribuir al desarrollo sostenible y promover el uso de fuentes alternativas de compuestos bioactivos con valor en el mercado (Bondam et al., 2022). Estos compuestos tienen el potencial de ser utilizados como alternativas en la producción de metabolitos importantes para la industria de alimentos. Las principales aplicaciones del café y subproductos están asociadas a su estructura y composición química, debido a la economía circular, la transformación y valorización de los principales subproductos de su cultivo y preparación (cáscara de café, cascarilla o pergamino de café y sobras de café como el mucílago) están inspirando a investigadores de todo el mundo (Durán-Aranguren et al., 2021).

Entre las diversas alternativas de valorización, en múltiples estudios reportaron la obtención de xilooligosacáridos (XOS) a partir de materiales

lignocelulósicos. Los XOS son oligómeros con xilosa en su cadena estructural, dentro de ellos se encuentran las formas (X2-xilobiosa, X3-xilotriosa, X4-xilotetraosa, etc.), estos son considerados prebióticos emergentes debido a sus efectos en la estimulación selectiva de especies probióticas como *Bifidobacteria* y *Lactobacillus* (Palaniappan et al., 2021). Las características de los carbohidratos aumentan su atractivo industrial, como su estabilidad química térmica, resistencia a los ácidos, bajo contenido calórico y capacidad edulcorante, estas características hacen que los XOS sean complementos ideales como aditivos para producir alimentos funcionales (Santibáñez et al., 2021).

La principal alternativa para la obtención de XOS, es a partir de la hidrólisis de la fracción de hemicelulosa de biomásas lignocelulósicas, mediante procesos o tratamientos químicos, hidrotérmicos y enzimáticos (Dilas-Jiménez y Cernaqué, 2021). Monteiro et al. (2021) afirman que el tratamiento hidrotermal es una interesante tecnología de biorrefinería para convertir biomasa lignocelulósica en biocompuestos. Cebin et al. (2021) y Ávila et al. (2020) explican que en el tratamiento hidrotermal se emplea agua como solvente de extracción, seguidamente se somete la mezcla a condiciones de temperaturas y presiones elevadas, convirtiéndolo en un proceso sustentable y eco-amigable. Ratnadewi et al. (2020) reportaron la extracción de xilano a partir de la cáscara de café y su utilidad para la producción de XOS, mediante hidrólisis enzimática utilizando endo- β -1,4-d-xilanasa. Además, afirmaron que la cáscara residual de café (CRC) poseen un 85% de fibra, la cual está mayormente constituida por celulosa y hemicelulosa, esta última es un heteropolisacárido que conforma la estructura de las células vegetales, donde el xilano actúa como su polímero constituyente. En ese sentido, Poletto et al. (2020) afirmaron que es posible obtener XOS con bajo grado de polimerización entre 2 y 6 utilizando condiciones hidrotermales, necesario para la función prebiótica.

Rosas et al. (2023) reportó la producción de XOS mediante tratamiento hidrotermal de la fracción de hemicelulosa a partir del tallo de la quinua, obteniendo XOS, con un 7.9% del total en xilobiosa y 7.6% de xilotriosa, respecto a la fracción de hemicelulosa. Corrales et al. (2023) reportaron la producción de XOS a partir de la cáscara de arroz, realizando tratamiento hidrotermal para ello, utilizaron un reactor Parr agitado de 1 L, obtuvieron 1.21 g/L de xilosa y 2.43 g/L de XOS (X2-X6). Rosas et al. (2023) y Corrales et al. (2023) indicaron que previo al tratamiento hidrotermal

realizaron un proceso de extracción sólido-líquido, para extraer los compuestos solubles en agua y etanol del material biológico que estudiaron. Posterior al tratamiento hidrotérmico, purificaron el extracto de XOS, utilizando membranas poliméricas de ultrafiltración (UF) y nanofiltración (NF), recuperaron un total del 70% de XOS del residuo de quinoa y un total de 85% de XOS de la cáscara de arroz, respectivamente. Rosas et al. (2023) afirman que diversos factores influyen en el proceso de purificación, como la dispersión del tamaño de poro de las membranas, las condiciones operativas de filtración, la temperatura y la presión que requieren ser estudiados a fin de optimizar el proceso. Según Pinales-Márquez et al. (2021) y Corim y Gabardo (2021) el procesamiento de biomasa lignocelulósica es un potencial como fuente prebiótica, con importancia social, económica y ambiental. De hecho, el presente trabajo de investigación estaría alineado con al menos dos de los 17 objetivos de desarrollo sostenible planteados por la Organización de las Naciones Unidas para conseguir un futuro sostenible (“fin de la pobreza”, y “ciudades y comunidades sostenibles”).

Bajo este enfoque, el presente proyecto tuvo como objetivo general determinar las mejores condiciones de producción de XOS a partir de la cáscara residual de café variedad catimor para posterior uso como prebiótico en la industria de alimentos, para ello se plantearon tres objetivos específicos i) caracterizar la cáscara de café, en sus principales componentes como celulosa, hemicelulosa, lignina, extractivos y cenizas, ii) estudiar el efecto del tratamiento hidrotermal para la producción de XOS, respecto al tiempo y a la presencia de ácido cítrico, y iii) concentrar la fracción líquida obtenida del tratamiento hidrotermal a través de las membranas poliméricas de ultrafiltración y nanofiltración.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Lugar de ejecución

El proyecto se ejecutó en el Laboratorio de Tecnología de Alimentos de la Escuela Profesional de Ingeniería de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional de Jaén- Jaén, en colaboración con el Laboratorio de Postcosecha de la Facultad de Ingeniería de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza - Amazonas, y el Laboratorio de Bioprocesos de la Universidad Católica de Santa María - Arequipa.

2.2. Materiales

2.2.1. Material biológico

El material biológico utilizado fue la cáscara residual de café (CRC) variedad catimor, la cual se obtuvo de las fincas ubicadas en los siguientes caseríos: Las Sidras ubicado en La Coipa (San Ignacio), El Laurel, ubicado en Las Pirias (Jaén) y Santa Fé (Jaén).

2.2.2. Reactivos

Los reactivos utilizados fueron de grado analíticos y controlados que fueron adquiridos de Merck Perú, como:

- Ácido sulfúrico (H_2SO_4) 72% (marca - Emsure®)
- Carbonato de sodio (Na_2CO_3) (marca - Emsure®)
- Ácido cítrico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$) (marca - Emsure®)
- Fosfato disódico (Na_2HPO_4) (marca - Emsure®)
- Estándares de alta pureza: D-celobiosa, D (+) glucosa, D (+) xilosa, D (+) galactosa. (marca - Supelco)
- Estándares de XOS (xilosa, xilobiosa, xilotriosa, xilotetraosa) (marca - Supelco)
- Alcohol de 96 % (marca - Hersil)
- Acetonitrilo (CH_3CN) de grado HPLC (marca - Supelco)
- Enzima Cellic® CTec2 (Novozymes - Supelco)

2.2.3. Materiales de laboratorio

- Matraces (250 mL, 500 mL y 1000 mL)
- Probetas (50, 100, 250, 500 y 1000 mL)
- Tubos de ensayo (5, 10 y 25 mL)
- Matraz Kitasato (1 litro)
- Vasos precipitados (50, 100, 250, 500 y 1000 mL)
- Fiolas (100, 200 y 500 mL)
- Crisoles de porcelana
- Desecador (2.5 L)
- Filtros de celulosa (MF-Millipore™)
- Filtros de jeringa PES estéril (Menbrane solutions)
- Viales estériles para HPLC (Menbrane solutions)
- Micropipetas de 20 y 200 uL (Transferpette - ddbiolab)
- Micropipetas de 1 y 5 mL (Transferpette - ddbiolab)
- Celdas rectangulares de cuarzo Spectrosil 10 mm (VWR)
- Precolumna y columna de carbohidratos para HPLC (marca - Thermo Scientific).

2.2.4. Aparatos y equipos

- Balanza analítica (marca-PCE/BSH)
- Medidor de humedad, modelo MA35 (marca – Sartorius)
- Estufa (marca – ENXIN)
- Baño María (marca - WITEG)
- Autoclave (marca - WITEG)
- Licuadora (marca - osterizer)
- Batería soxhlet (marca - Tecnal)
- Espectrofotómetro GENESYS™ 180 UV-Vis (marca - Thermo Fisher Scientific)
- Bomba de vacío para filtración (marca - Millipore)
- Mufla (marca - Thermo Fisher Scientific)
- Equipo Reactor Parr de 1 L (marca - Parr Instrument)
- Potenciómetro pH (marca - OAUS)
- Agitador (marca - Vortex)

- Sistema de Filtración con Línea de Nitrógeno (marca – Pressure Rating)
- Sistema de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (marca – Thermo Scientific).
- Incubadora con agitación (marca - LBX S50L)

2.3. Población, muestra y muestreo

2.3.1. Población

La cáscara residual de café variedad catimor se obtuvo de las fincas ubicadas en los siguientes caseríos: Las Sidras (San Ignacio), El Laurel (Jaén) y Santa Fé (Jaén).

2.3.2. Muestra

Estuvo constituida por 20 kg de cáscara residual de café, la cual fue procesada para obtener material hemicelulósico, potencial sustrato para la producción de XOS.

2.3.3. Muestreo

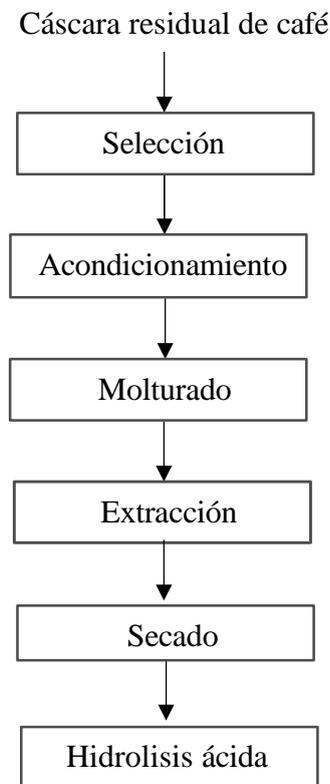
Se empleó la técnica de muestreo no probabilístico, de tipo muestreo por conveniencia, donde se empleó la cáscara residual de café como material biológico.

2.4. Métodos, técnicas, procedimientos e instrumentos de recolección de datos

El procedimiento experimental para la obtención de XOS a partir de la CRC, inició con la selección, acondicionamiento del sub producto, y obtención de la biomasa libre de extractivos mediante extracción sólido-líquido; posteriormente, se realizó la caracterización química tal como se describe en la Figura 1. La biomasa libre de extractivos se sometió a tratamiento hidrotermal (TH) para analizar la concentración de XOS, a través de la técnica de HPLC. La fracción líquida recuperada del tratamiento hidrotermal se purificó en un sistema de membranas y la fracción sólida, se sometió a hidrólisis enzimática.

Figura 1

Acondicionamiento de la cáscara residual de café (CRC), extracción sólido-líquido y caracterización química de CRC libre de extractivos



2.4.1. Obtención y caracterización composicional de la cáscara residual de café

- Obtención de la cáscara residual de café

Posterior al beneficio húmedo la cáscara residual de café fue seleccionada y sometida a un proceso de secado (Figura 11) en estufa (cámara de secado directo) a 50 °C durante 22 horas aproximadamente, hasta que su humedad alcanzó 10% (Figura 12), posteriormente, fue molturada en un molino manual y una licuadora, para reducir su tamaño de partícula; finalmente, se utilizó tamices para homogenizar el material (Figura 13) a un tamaño de partícula de entre 850 µm (N° 20) y 1.4 mm (N° 14), las muestras se almacenaron en envases herméticos (Figuras 14).

- **Extracción sólido-líquido de la cáscara residual de café**

Inicialmente, se pesaron 12 muestras de 15 g, y se utilizó 150 mL de solvente por muestra (Figura 15). Para ello se utilizó dos baterías soxhlet de seis piezas como se observa en las Figuras 16 y 17, empleando etanol al 96% y agua destilada como solventes. Cada muestra fue sifonada durante 2h con etanol y 6h con agua destilada, cada 2h se renovaba el solvente. El proceso de extracción sólido-líquido implicó la eliminación de los colorantes y compuestos naturales solubles, tal como se muestra en la Figura 18. Posteriormente, la biomasa libre de extractivos, se secó en una estufa a 50 °C durante 6 horas, hasta alcanzar una humedad final del 10% (Figura 19). Finalmente, fue almacenada en envases herméticos para la siguiente etapa de la caracterización química como se observa en la Figura 20.

2.4.2. Caracterización química de la biomasa: contenido de celulosa, hemicelulosa y estimación del contenido de lignina soluble e insoluble en ácido.

La caracterización química de la cáscara residual de café se llevó a cabo siguiendo el procedimiento establecido por el Laboratorio Nacional de Energía Renovable, descrito por Sluiter et al. (2012) en el cual detallan los métodos para determinar carbohidratos estructurales y lignina en biomasa.

- **Hidrólisis ácida en dos etapas**

De acuerdo con Wang et al. (2009) la hidrólisis ácida de dos etapas permite fraccionar la biomasa para su cuantificación mediante espectrofotometría UV-Visible y HPLC. En la primera etapa, se pesaron 0.3 g de muestra de la CRC libre de extractivos por triplicado, se colocaron en tubos de ensayo y se añadieron 3 mL de ácido sulfúrico al 97 % (v/v), los cuales mantuvieron a 30 °C en un baño maría durante 1:30 hora con agitación constante cada 5-10 minutos, como se muestra en la Figura 21.

La segunda etapa comenzó al concluir el tiempo de reacción, y el contenido precipitado de los tubos se vertieron a matraces Erlenmeyer (100 mL), al cual se le adicionó 84 mL de agua destilada. Luego, las muestras se sometieron a autoclave por 1 hora a 121°C para llevar a cabo la segunda hidrólisis de los carbohidratos

(Figura 22). Posteriormente, las muestras se dejaron enfriar y se filtraron en crisoles Gooch N° 3, utilizando una bomba de vacío como se observa en las Figura 24. El sobrenadante filtrado (fracción líquida) se empleó para el análisis de azúcares por HPLC como se muestra en la Figura 25 y la determinación de lignina soluble mediante espectrofotometría UV-Visible a una longitud de 240 nm. Se utilizaron celdas de cuarzo que contenían una dilución de 1/10, es decir, 0.5 mL de muestra y 4.5 mL de agua destilada, empleando agua destilada como blanco como se observa en la Figura 26. La fracción sólida retenida en los crisoles Gooch se secó durante cinco horas a 105 °C en una mufla, se observa en la Figura 27 y se pesó para estimar el contenido de lignina insoluble por diferencias de masas; para calcular los componentes de interés se aplicó las siguientes fórmulas, siguiendo la metodología propuesta por Sluiter et al. (2012):

$$\% \text{ Lignina Soluble} = \frac{X_{Abs} * V * D}{\epsilon * m_s * F_c} * 100$$

$$\% \text{ Lignina Insoluble} = \frac{\text{muestra insoluble}}{m_s * 100}$$

$$\% \text{ Hemicelulosa} = \frac{X + A * V * 0.88}{W_{muestra} (1 - \%H)} * 100$$

$$\% \text{ Celulosa} = \frac{G * V * 0.90}{m_s} * 100$$

Donde:

X_{Abs} = promedio de absorbancia

V = volumen (L)

D = 10 (dilución)

ϵ = 25 (constante de absortividad)

m_s = masa en base seca

F_c = 1 (factor de cuarzo)

X = xilosa

A = arabinosa

G = glucosa

%H = Promedio porcentaje de humedad

Factor de hemicelulosa = 0.88

Factor de celulosa = 0.90

- **Determinación de cenizas**

El residuo insoluble obtenido en los crisoles Gooch N°3, resultante de la caracterización química fue sometido a calcinación en una mufla a 500 °C durante 6 horas para determinar el contenido de cenizas como se observa en la Figura 27. Los resultados de las cenizas obtenidas se utilizaron para ajustar el contenido de lignina en el material.

Se determinó el contenido de cenizas de la CRC deshidratada y molida. Se colocó esta biomasa en un crisol de porcelana, en cantidades que oscilaban entre 0.3 y 0.5 gramos, y se expuso a una temperatura de 575 °C en una mufla durante un período de 2 horas. La cantidad de cenizas se calculó mediante la diferencia entre la masa inicial y la final de los crisoles. Ambos análisis de determinación de cenizas se llevaron a cabo siguiendo la metodología propuesta por Sluiter et al. (2012).

2.4.3. Tratamiento hidrotermal para la producción de XOS

- **Tratamiento realizado en reactor Parr de 1 L**

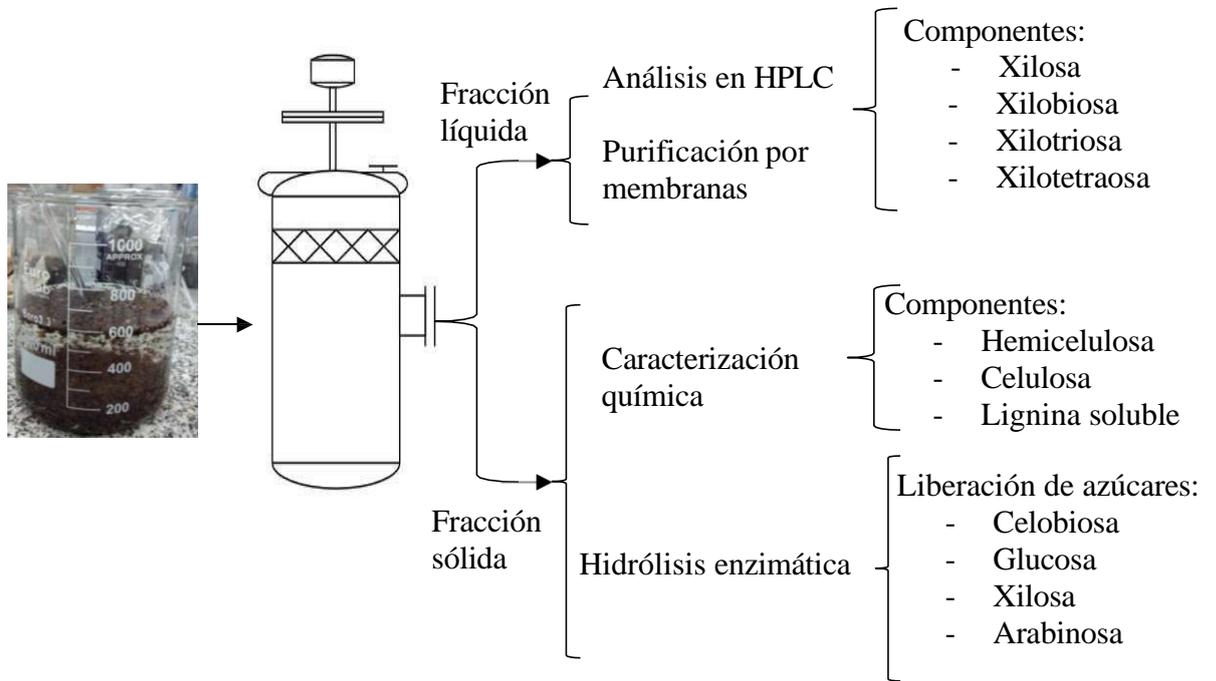
La CRC libre de extractivos se sometió a un tratamiento hidrotermal utilizando un reactor presurizado de tanque agitado de 1 L (Modelo 4536, Parr Instrument Company, EE.UU.) como se observa en la Figura 29. En esta etapa se llevaron a cabo 4 tratamientos (T1, T2, T3 y T4). En el primer tratamiento (T1), se emplearon 40 g de CRC, los cuales se diluyeron en 300 mL de agua destilada. A los 30 minutos de proceso, se añadieron 100 mL de agua adicionales de agua, alcanzando un volumen total de 400 mL. En el segundo tratamiento (T2), se utilizaron 40 g de CRC diluidos en 800 mL de agua destilada. En el tercer tratamiento (T3), se emplearon 40 g de CRC diluido en 400 mL de agua

destilada. En el cuarto tratamiento (T4) se pesó 40 g de CRC y se le añadió ácido cítrico al 7% (p/p) de la masa de la muestra en gramos, y diluyéndose en 400 mL de agua destilada, en todos los tratamientos se diluyó como se observa en la Figura 27. Se evaluó el tiempo de proceso (15, 30, 45, 60 min) manteniendo una temperatura de 180 °C, la velocidad de agitación de 120 rpm y la velocidad de calentamiento estuvo fijada en 3 °C/min en todos los tratamientos.

El tiempo de tratamiento hidrotermal se consideró desde que el reactor Parr alcanzó la temperatura de proceso, es decir 180 °C. Se extrajo una alícuota de un mL de la mezcla dentro del reactor cada 15 minutos, a excepción del T1, donde se extrajeron una alícuotas a los 30 y 60 minutos. En todos los tratamientos se extrajo una alícuota, se centrifugó por 5 minutos y se filtró utilizando un millex de 0.20 µm, como se observa en las Figura 25. Luego, se evaluó el efecto del tiempo de tratamiento sobre la producción de XOS en el equipo HPLC tal como se muestra en la Figura 36. Después del hidrotermal, el reactor se dejó enfriar durante 5 minutos hasta que la presión interna absoluta se redujo a una atmósfera. Finalmente, la fracción líquida y la fracción sólida insoluble al hidrotermal se separó utilizando papel filtro para el análisis de XOS. La fracción líquida de T3 y T4 fueron seleccionados para la purificación por membranas, debido a su mayor contenido en X2 y X3 en el análisis de HPLC posterior al hidrotermal, como se detalla de manera general en la Figura 2.

Figura 2

Tratamiento hidrotermal de la cáscara residual de café



- Caracterización química de la fracción sólida del tratamiento hidrotermal

La caracterización química de los residuos sólidos obtenidos del proceso hidrotermal se llevó a cabo siguiendo los procedimientos descritos por Sluiter et al. (2012). Los sólidos analizados correspondientes a los tratamientos T2, T3 y T4, se caracterizaron por triplicado. Se pesaron 0.3 g de sólidos utilizando tubos de ensayo y se añadió 3 mL de H_2SO_4 al 97% y se mantuvo a $30^\circ C$ en baño maría por 1:30 hora (Figura 21). Posteriormente, se traspasó a matraces de 100 mL y se añadió 84 mL de agua destilada. Luego, se llevaron a autoclave a $121^\circ C$ por 1 hora (Figura 22). Tras el enfriamiento, se filtraron en los crisoles Gooch N° 3 (Figura 24). La fracción líquida recuperada se analizó en espectrofotómetro a 240 nm y medir los componentes de interés que aún pudiera contener, como la lignina soluble en ácido y el contenido de azúcares, que fueron analizados por espectrofotometría y HPLC, respectivamente. Para calcular los componentes de interés se aplicó las siguientes fórmulas:

$$\% \text{ Hemicelulosa} = (X + A * 0.88) * 1000$$

$$\% \text{ Celulosa} = (G * 0.90) * 1000$$

$$\% \text{ Lignina Soluble} = \frac{X_{Abs} * V * D}{\epsilon * m_s * F_c} * 100$$

Donde:

X = xilosa

A = arabinosa

G = glucosa

Factor de hemicelulosa = 0.88

Factor de celulosa = 0.90

X_{Abs} = promedio de absorbancia

V = volumen (L)

D = 10 (dilución)

ϵ = 25 (constante de absortividad)

m_s = masa en base seca

F_c = 1 (factor de cuarzo)

- **Hidrólisis enzimática de la fracción sólida del tratamiento hidrotermal**

El residuo sólido resultante se sometió a un proceso de hidrólisis enzimática. Se pesó 1g de residuos sólidos de cada muestra (T2, T3 y T4) en una solución de citrato de sodio a 50 mM con un pH de 4.8, en una proporción de 20 mL de solución. Se empleó una mezcla de enzimas Cellic® CTec2, con una concentración de enzimas de 20 FPU/g, 50 °C fue la temperatura de reacción en la incubadora y una velocidad de agitación de 150 rpm, durante un periodo de 24 horas, para lo cual se empleó una incubadora con agitación como se observa en la Figura 31. El rendimiento de la hidrólisis enzimática de la celulosa se evaluó calculando la cantidad de glucosa liberada durante el proceso

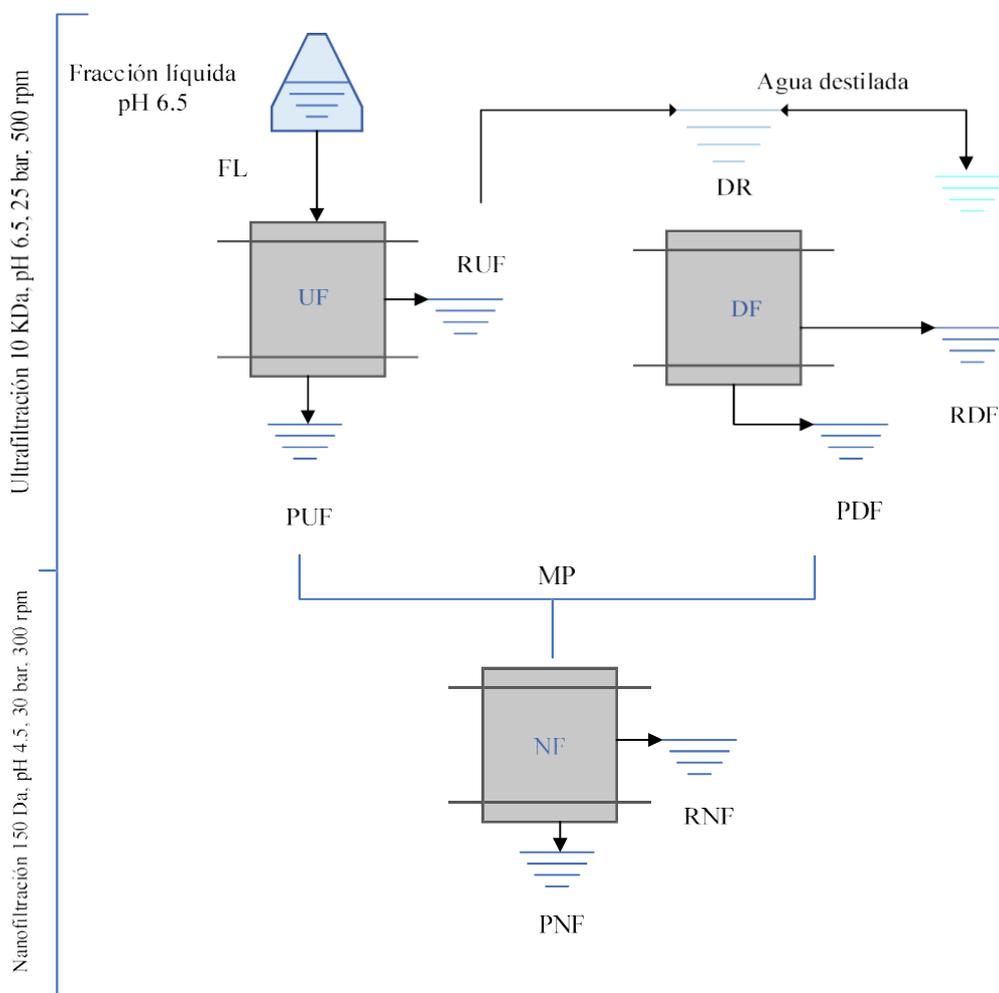
enzimático en comparación con la cantidad total de glucosa liberada tras una hidrólisis química completa, siguiendo la metodología reportada por Sluiter et al. (2012), los componentes se determinaron en HPLC.

- **Purificación de XOS por tecnología de membranas**

Los hidrolizados de los tratamientos T3 y T4, obtenidos después de 60 minutos del tratamiento hidrotermal, fueron sometidos de manera independiente a ultrafiltración (UF), diafiltración (DF) y nanofiltración (NF), utilizando un sistema de filtración equipado con una celda Sterlitech, acoplado a una línea de nitrógeno, como se observa en la Figura 32. La fracción líquida (hidrolizado), se ajustó el pH de 8 a 6.5 y se sometió a UF a una presión de 25 bar y 500 rpm utilizando una Membrana Microdyn Nadir, con un peso molecular nominal de 10 kDa. El retentado obtenido en la UF se sometió a DF, diluyendo previamente con agua destilada (1:1 v/v) para el filtrado, se utilizó la misma membrana nominal de 10 kDa y las mismas condiciones de la UF. Posteriormente, los permeados (moléculas de menor tamaño que atravesaron la membrana) obtenido en la UF y DF se mezclaron, y luego se ajustó el pH a 4.5; finalmente, se sometió a un proceso de NF (30 bar, 400 rpm) para lo cual se utilizó la membrana de lámina plana Microdyn Nadir de 150 Da, como se observa en la Figura 33. En la fracción retenida (retentado) posterior a la NF se obtiene un extracto rico en XOS como se muestra en la Figura 34. El proceso de filtración se detalla en la Figura 3.

Figura 3

Proceso de ultrafiltración, diafiltración y nanofiltración del extracto de XOS obtenido del tratamiento hidrotermal



Nota. Fracción líquida (FL), permeado de la ultrafiltración (PUF), retentado de la ultrafiltración (RUF), dilución del retentado (DR), permeado de la diafiltración (PDF), retentado de la diafiltración (RDF), mezcla de permeados (MP), permeado de la nanofiltración (PNF), retentado de la nanofiltración (RNF).

- **Análisis de XOS por HPLC**

Las fracciones retenidas y permeadas en las membranas de UF y NF, fueron analizadas con la técnica de separación de componentes. La cuantificación de XOS se llevó a cabo utilizando una columna HPX-87H (300 × 7.8mm) y una precolumna HyperREZ Carbohydrate H⁺. Las condiciones fueron

las siguientes: temperatura de columna de 45 °C, temperatura del horno 75 °C, agua milli Q como fase móvil, velocidad de flujo de 0.6 mL/min y volumen de inyección de 20 µL. El equipo HPLC se sincronizó con el software cromatográfico CROMIN para determinar e indicar a través de cromatogramas las concentraciones de los componentes, como se observa en la Figura 37.

- **Análisis del contenido de compuestos fenólicos totales**

Para determinar los compuestos fenólicos en los diferentes extractos, se realizó siguiendo la metodología de Folin-Ciocalteu de Singleton y Rossi, (1965) descrita por Waterhouse (2002) en la que detalla la determinación de los fenoles totales. Inicialmente, se preparó una solución donde se tomó 0.5 mL de la muestra hidrolizada y se mezcló con 0.25 mL de reactivo de Folin diluido a 0.1 N (proporción de 1 parte de reactivo de Folin por 1 parte de agua destilada). Luego, se añadieron 1.25 mL de carbonato de sodio con una concentración de 75 g/L y se agitó vigorosamente utilizando un Vortex. La mezcla resultante se dejó en completa oscuridad durante 30 minutos. Posteriormente, se realizó la medición utilizando un espectrofotómetro UV-visible de la marca ThermoScientific, a una longitud de onda de 755 nm.

Curva de calibración de fenólicos: $Y = 0.0349X - 0.0045$

$$\text{Concentración de fenólicos } \left(\frac{mg}{g} \right) = \frac{\text{Promedio Abs (Y)} + 0.0045}{0.0349}$$

2.4.4. Variables de estudio

Tabla 1

Descripción de las variables de estudio

ETAPAS	INDEPENDIENTES		DEPENDIENTES	
	Variable	Unidades	Variable	Unidades
Caracterización química 1	Concentración de H ₂ SO ₄	mL	Contenido de: Celulosa Hemicelulosa Lignina Cenizas	g/g
Tratamiento hidrotermal	Tiempo de hidrotermal Cantidad de sólido	min sólido/líquido	Concentración de XOS	g/kg
Caracterización química 2	Concentración de H ₂ SO ₄	mL	Contenido de: Celulosa Hemicelulosa Lignina soluble	g/mL
Hidrólisis enzimática	Concentración de enzimas Cellic CTec2	FPU/g	Contenido de: Celobiosa Glucosa Xilosa Arabinosa	g/L
Purificación en Membranas	pH Tipo de filtración: Ultrafiltración (UF) Diafiltración (DF) Nanofiltración (NF)	kDa kDa Da	Concentración de XOS	g/L

2.4.5. Diseño experimental

El diseño experimental fue ANOVA para un diseño de bloques completamente al azar (DBCA) con arreglo factorial de A x B donde (A) corresponde a los cuatro tratamientos del proceso hidrotermal; T1, T2, T3 y T4 y (B) hace referencia a los tiempos de tratamiento; 15 min, 30 min, 45 min y 60 min. Adicional a esto, se realizaron comparaciones individuales para cada tratamiento mediante Tukey como se muestra en

la Tabla 2. Asimismo, se analizó los resultados de la UF, DF y NF de T3 y T4, en función a la concentración de XOS, como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 2

Descripción del DBCA y sus factores del tratamiento hidrotermal

Factor A	Factor B
Tratamientos	Tiempo hidrotermal (minutos)
T1	30
	60
	15
T2	30
	45
	60
T3	15
	30
	45
T4	60
	15
	30
	45
	60

Nota. Del factor A se extrajo una alícuota de la fracción líquida en un tiempo de tratamiento específico (factor B) para analizar la concentración de XOS.

Tabla 3

Descripción del DBCA y sus factores del sistema de filtrado con membranas

(A) Tratamientos	(B) Proceso de UF, DF y NF
	FL
	PUF
T3	RUF
	DR
T4	PDF
	RDF
	MP
	PNF
	RNF

Nota. La fracción líquida (FL) de T3 y T4 fueron elegidas para el proceso de filtración, del factor A se extrajo una alícuota en cada proceso de filtrado (factor B), para analizar la concentración de XOS; es decir, se analizó el permeado de la ultrafiltración (PUF), retentado de la ultrafiltración (RUF), dilución del retentado (DR), permeado de la diafiltración (PDF), retentado de la diafiltración (RDF), mezcla de permeados (MP), permeado de la nanofiltración (PNF), retentado de la nanofiltración (RNF).

2.4.6. Análisis de datos

El análisis de datos se desarrolló mediante un diseño de bloques completamente al azar (DBCA), a través de un análisis de varianza y la prueba de múltiples rangos por tratamiento fue mediante Tukey a un nivel de confianza del 95% para cada componente como xilosa, xilobiosa, xilotriosa, xilotetraosa, compuestos fenólicos, celobiosa, hemicelulosa, celulosa y lignina soluble. Donde la variable de bloqueo fue el tipo de tratamiento (T1, T2, T3 y T4), y los niveles se interpretaron como el tiempo hidrotermal. Todas las respuestas medidas a través de los diferentes análisis fueron evaluados mediante el software estadístico Statgraphics versión 16.1.1.

III. RESULTADOS

3.1. Caracterización química de la cáscara residual de café

La composición de la CRC libre de extractivos, se muestra en la Tabla 4, los resultados fueron expresados como material lignocelulósico.

Tabla 4

Caracterización química de la cáscara residual de café libre de extractivos

COMPONENTES (% en peso)	
Carbohidratos totales	35.43 ± 0.02
Hemicelulosa	15.04 ± 0.02
Celulosa	20.39 ± 0.02
Lignina Total	27.04 ± 0.03
Lignina soluble en H ₂ SO ₄	5.11 ± 0.03
Lignina insoluble en H ₂ SO ₄	21.93 ± 0.03
Cenizas	6.9 ± 0.10
TOTAL	96.17

Nota. Los resultados corresponden al promedio por triplicado ± la desviación estándar, el porcentaje de extractivos se reportó por separado.

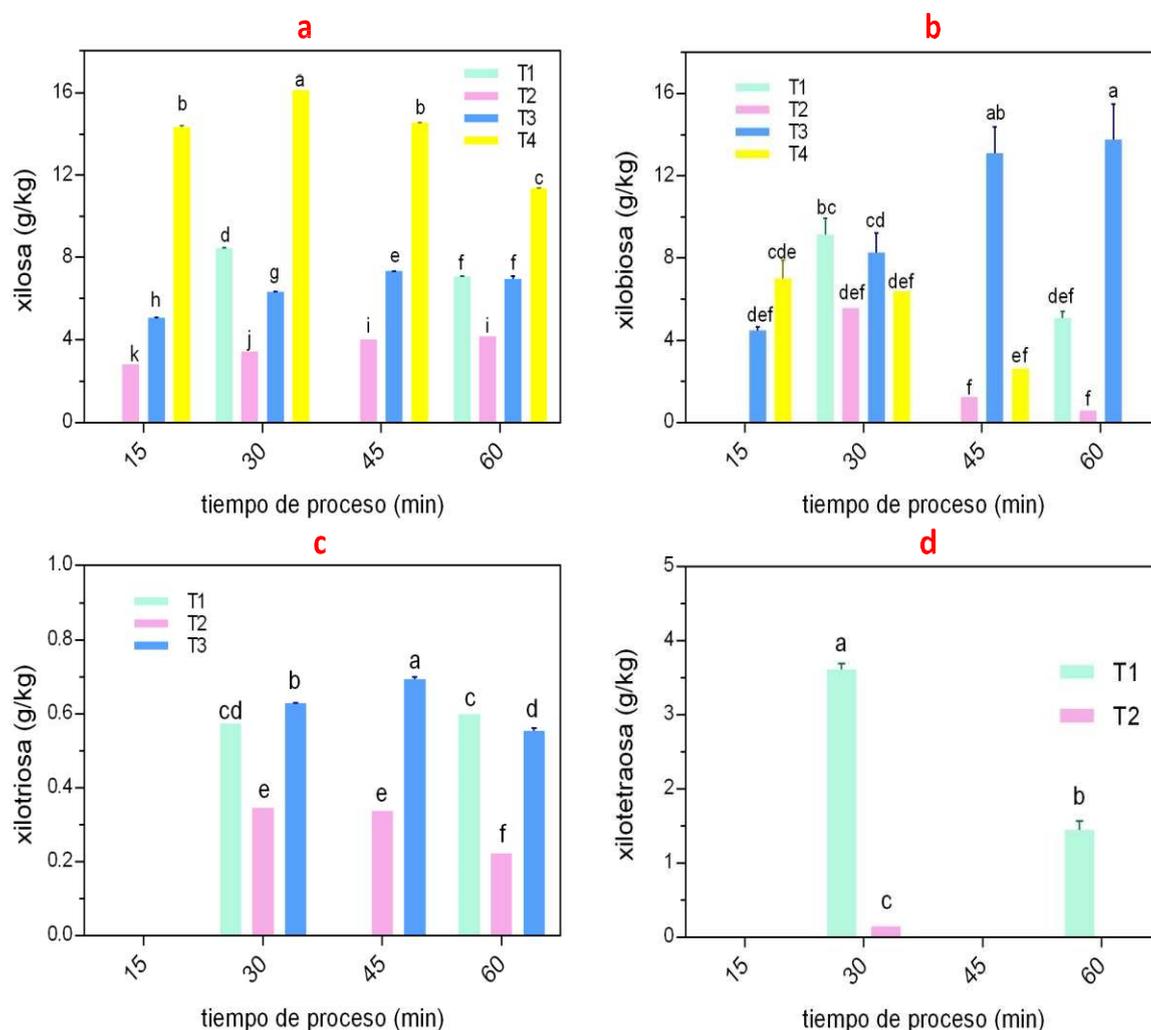
El contenido de carbohidratos totales fue de 35.43%, donde la celulosa destacó como el componente más predominante; el contenido de hemicelulosa también presentó una importante proporción. En cuanto al contenido de lignina, este alcanzó un total de 27.04%, siendo la mayor parte de esta lignina insoluble. Además, se registró un contenido de cenizas de 6.9%. Por otro lado, en el proceso de extracción sólido-líquido se obtuvo una notable cantidad de componentes solubles por etanol y agua, que resultó en un 46.32% de extractivos.

3.2. Producción de XOS mediante tratamiento hidrotermal en reactor Parr de 1 L y análisis de XOS por HPLC.

El tratamiento hidrotermal de CRC permitió evaluar la producción y la eficiente extracción de XOS. Para ello, se analizó la dilución (materia prima-solvente), así como la ausencia y la adición de ácido cítrico en el medio, con el propósito de determinar si la presencia del ácido ejercía un efecto sinérgico en la hidrólisis del material lignocelulósico. En la fracción líquida, se detectó la presencia de XOS en la biomasa de CRC. Los valores se expresaron en función de la materia seca inicial, como se observa en la Figura 4, que ilustra los cuatro procesos de hidrólisis térmica a 180 °C en diferentes tiempos de tratamiento, en relación con la concentración de cada componente: xilosa (X1), xilobiosa (X2), xilotriosa (X3) y xilotetraosa (X4), detectado en el HPLC.

Figura 4

Efecto del tratamiento hidrotérmico de la cáscara residual de café sobre la extracción de xilosa (X1), xilobiosa (X2), xilotriosa (X3) y xilotetraosa (X4)



Nota. Las Figuras 4a y 4b muestran la concentración de X1 y X2, respectivamente; en función al tiempo de tratamiento hidrotérmico. Las Figuras 4c y 4d representa la concentración de X3 y la concentración de X4, secuencialmente. Diferentes colores para T1, T2, T3 y T4 indican la producción de XOS.

La Figura 4a ilustra las concentraciones de X1 obtenidas en el tratamiento hidrotérmico. En el T4, se detectó mayor liberación de X1 en todos los tiempos analizados, alcanzando su máxima concentración de 16 g/kg a los 30 minutos de tratamiento, y la concentración más baja fue de 11 g/kg a los 60 minutos. En el T1, sólo se detectó X1 a los 30 y 60 minutos, obteniéndose la mayor concentración de

9 g/kg a los 30 minutos. En T2 se liberó X1 en todos los tiempos de tratamiento, obteniéndose una mayor concentración a los 45 y 60 minutos, donde se detectó una concentración de 4 g/kg en ambos tiempos. Asimismo, en T3, se observó la liberación de X1 en todos los tiempos de hidrólisis, alcanzándose una concentración máxima de 7 g/kg a los 45 minutos. De acuerdo con el análisis ANOVA, los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores, como se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5

Análisis de Varianza para xilosa

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamientos	327.40	3	109.13	92.13	0.00
B: Tiempo de tratamiento	8.99	3	2.99	2.53	0.09
RESIDUOS	18.95	16	1.18		
TOTAL	355.45	22			

Se realizó el análisis de varianza con un nivel de confianza del 95%. El contenido de X1 resultó significativo con respecto al tratamiento, como se puede apreciar en las Tablas 5. Sin embargo, la variable tiempo no influyó en la concentración de los azúcares. En el análisis Tukey se identificó tres grupos homogéneos, es decir, los tratamientos T1 y T3 mostraron similitud. No existen diferencias estadísticamente significativas entre esos niveles, como se muestra en el Anexo 2.

La Figura 4b muestra la concentración de X2, en el T3 se detectó una alta concentración de X2 en todos los tiempos evaluados, alcanzando el valor máximo de 14 g/kg a los 60 minutos, y la menor liberación fue de 4 g/kg a los 15 minutos. En el T1 sólo se detectó la concentración de X2 en los tiempos de 30 y 60 minutos, obteniéndose 9 g/kg como mayor liberación a los 30 minutos. En el T4 se logró detectar X2 a los 15, 30 y 45 minutos, obteniendo una mayor concentración de 7 g/kg a los 15 minutos. La menor concentración se registró en el T2 en el cual se detectó concentraciones a los 30, 45 y 60 minutos, la mayor concentración de X2

fue 5 g/kg a los 30 minutos, y un nivel inferior de 0.55 g/kg se registró a los 60 minutos. El análisis ANOVA de los factores se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6

Análisis de Varianza para xilobiosa

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamientos	150.507	3	50.1692	4.40	0.0263
B: Tiempo de tratamiento	28.3804	3	9.46013	0.83	0.5031
RESIDUOS	136.954	12	11.4128		
TOTAL (CORREGIDO)	299.392	18			

En la Tabla 6 se observa que el valor-P del factor A es menor que 0.05. Este factor tiene un efecto estadísticamente significativo sobre X2 con un nivel de confianza del 95%. El contenido de X2 resultó significativo con respecto al tratamiento. Sin embargo, la variable tiempo no influyó en la concentración de los azúcares. En el análisis Tukey se identificaron dos grupos homogéneos formados por T1 y T4 (Anexo 2); además, los tratamientos T1, T2, y T4 mostraron similitud, a diferencia del T3, que es estadísticamente diferente.

En la Figura 4c se muestra las concentraciones de X3, esta fue detectada en los tratamientos T1, T2 y T3. En el T3, se detectó la máxima concentración de 0.70 g/kg a los 45 minutos de hidrotermal. En el T1 se detectó X3 a los 30 y 60 minutos, obteniéndose una mayor concentración de 0.60 g/kg a los 60 minutos de tratamiento. Finalmente, en el T2, estadísticamente se obtuvo la mayor liberación de 0.34 g/kg a los 30 y 45 minutos. El análisis ANOVA se muestra en la Tabla 7.

Tabla 7*Análisis de Varianza para xilotriosa*

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamientos	0.32	2	0.16	170.11	0.00
B: Tiempo de tratamiento	0.029	2	0.01	15.55	0.00
RESIDUOS	0.01	8	0.00		
TOTAL (CORREGIDO)	0.36	12			

La Tabla 7 presenta los valores-P que indican la significancia estadística de cada uno de los factores. Las variables tratamientos y tiempo tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la concentración de X3 con un nivel de confianza del 95%. Además, el análisis Tukey identificó dos grupos homogéneos, es decir, los tratamientos T1 y T3 no presentan diferencias significativas.

En la Figura 4d se muestra las concentraciones de X4, la liberación de este componente se detectó en T1 y T2. En el T1 se obtuvo 3.67 g/kg a los 30 minutos, siendo la máxima concentración y en T2 se detectó 0.14 g/kg a los 30 minutos de tratamiento. Los tratamientos T1 y T2 presentan diferencias significativas en la liberación de X4. La Tabla 8 muestra el análisis ANOVA.

Tabla 8*Análisis de Varianza para xilotetraosa*

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamientos	8.02	1	8.01	801.58	0.00
B: Tiempo de tratamiento	4.67	1	4.67	467.25	0.00
RESIDUOS	0.02	2	0.01		
TOTAL (CORREGIDO)	9.25	4			

La Tabla 8 muestra los valores-P que sustentan la significancia estadística de los factores. Las variables de tratamiento y tiempo de hidrólisis hidrotermal tienen diferencias significativas sobre X4 con un 95% de nivel de confianza.

Asimismo, en el análisis Tukey se identificó que los tratamientos (T1 y T2) presentan diferencias, como se observa en el Anexo 2.

3.3. Concentración de fenólicos

La fracción líquida de la caracterización química (CQ) y de los tres tratamientos hidrotermales (T2, T3 y T4) fueron sometidas análisis, se midió la absorbancia de las soluciones de ácido gálico patrón, con estos datos se elaboró la curva calibración respectiva, se relacionó la concentración de ácido gálico con la absorbancia, como se muestra en la Figura 5. La cuantificación de fenólicos demostró que hay presencia de compuestos antioxidantes, tal como se observa en la Tabla 9.

Figura 5

Curva de Calibración ácido Gálico

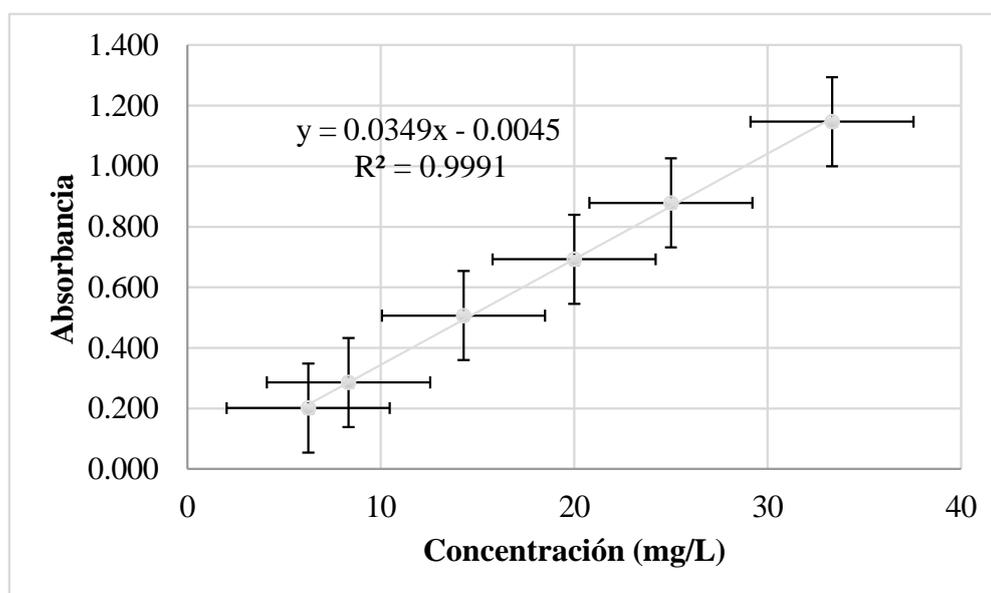


Tabla 9*Cuantificación de compuestos fenólicos*

Muestra	Concentración de Fenólicos (g/L)
Caracterización química	1.29 ± 0.24 ^c
T2	50.47 ± 5.89 ^b
T3	66.01 ± 4.39 ^a
T4	67.60 ± 1.96 ^a

Nota. Promedio de las concentraciones de fenólicos por triplicado ± la desviación estándar. Las distintas letras en la columna indica diferencias significativas entre los tratamientos según la prueba de Tukey con un 95% del nivel de confianza.

La presencia de componentes fenólicos se detectó en la FL resultante de la caracterización química como en los tres tratamientos de hidrotermal, el análisis ANOVA con un nivel del 95% de confianza indica que existe diferencia significativa entre la media de fenólicos respecto al tratamientos. En el análisis Tukey se han identificado 3 grupos homogéneos, es decir, T3 y T4 no presentan diferencias significativas entre sí, como se observa en el Anexo 3.

3.4. Composición de la fracción sólida e hidrólisis enzimática**- Caracterización química de la fracción sólida**

La fracción sólida obtenida al finalizar los 60 minutos de tratamiento hidrotermal de T2, T3 y T4, se secaron. Luego, se sometieron a caracterización química con la finalidad de determinar la presencia de hemicelulosa, celulosa y lignina soluble. Los resultados de estos componentes se muestran en la Tabla 10.

Tabla 10*Caracterización química de la fracción sólida*

Tratamiento	Concentración (g/mL)		
	Hemicelulosa	Celulosa	Lignina soluble
T2	21.69 ± 0.58 ^a	13.10 ± 0.04	3.42 ± 0.51 ^b
T3	11.90 ± 0.05 ^b	13.96 ± 1.65	3.37 ± 0.09 ^b
T4	1.35 ± 0.09 ^c	13.51 ± 0.46	6.94 ± 0.14 ^a

Nota. Promedio de las concentraciones por triplicado ± la desviación estándar. La misma letra en la columna indica que no hay diferencias significativas según la prueba de rango de Tukey (95% del nivel de confianza).

La fracción sólida del T2 liberó mayor concentración de hemicelulosa, a diferencia de las concentraciones de celulosa que no presentan diferencias significativas entre sí. La liberación de lignina soluble es predominante en el T4. El análisis ANOVA y Tukey se observa en el Anexo 4.

- **Hidrólisis enzimática**

La fracción sólida obtenida de los tres tratamientos hidrotermales (T2, T3 y T4) fueron sometidas a una hidrólisis enzimática con la finalidad de determinar la concentración de azúcares fermentados, los resultados se presentan en la Tabla 11.

Tabla 11*Azúcares liberados en la hidrólisis enzimática de los sólidos*

Muestra	Concentración (g/L)			
	Celobiosa	Glucosa	Xilosa	Arabinosa
Libre de extractivos	0.07 ± 0.01 ^b	0.54 ± 0.12 ^b	0.07 ± 0.01 ^b	0.05 ± 0.01 ^a
T2	0.08 ± 0.01 ^b	1.49 ± 0.01 ^a	0.07 ± 0.01 ^b	0.00 ± 0.00 ^b
T3	0.10 ± 0.02 ^a	1.42 ± 0.01 ^a	0.11 ± 0.01 ^a	0.04 ± 0.01 ^a
T4	0.08 ± 0.02 ^b	1.56 ± 0.03 ^a	0.08 ± 0.01 ^{ab}	0.00 ± 0.00 ^b

Nota. Promedio de concentración de azúcares por duplicado ± la desviación estándar. La misma letra en la columna indica que no hay diferencias significativas según la prueba de rango de Tukey (95% del nivel de confianza). Muestra libre de extractivos, sin tratamiento hidrotermal.

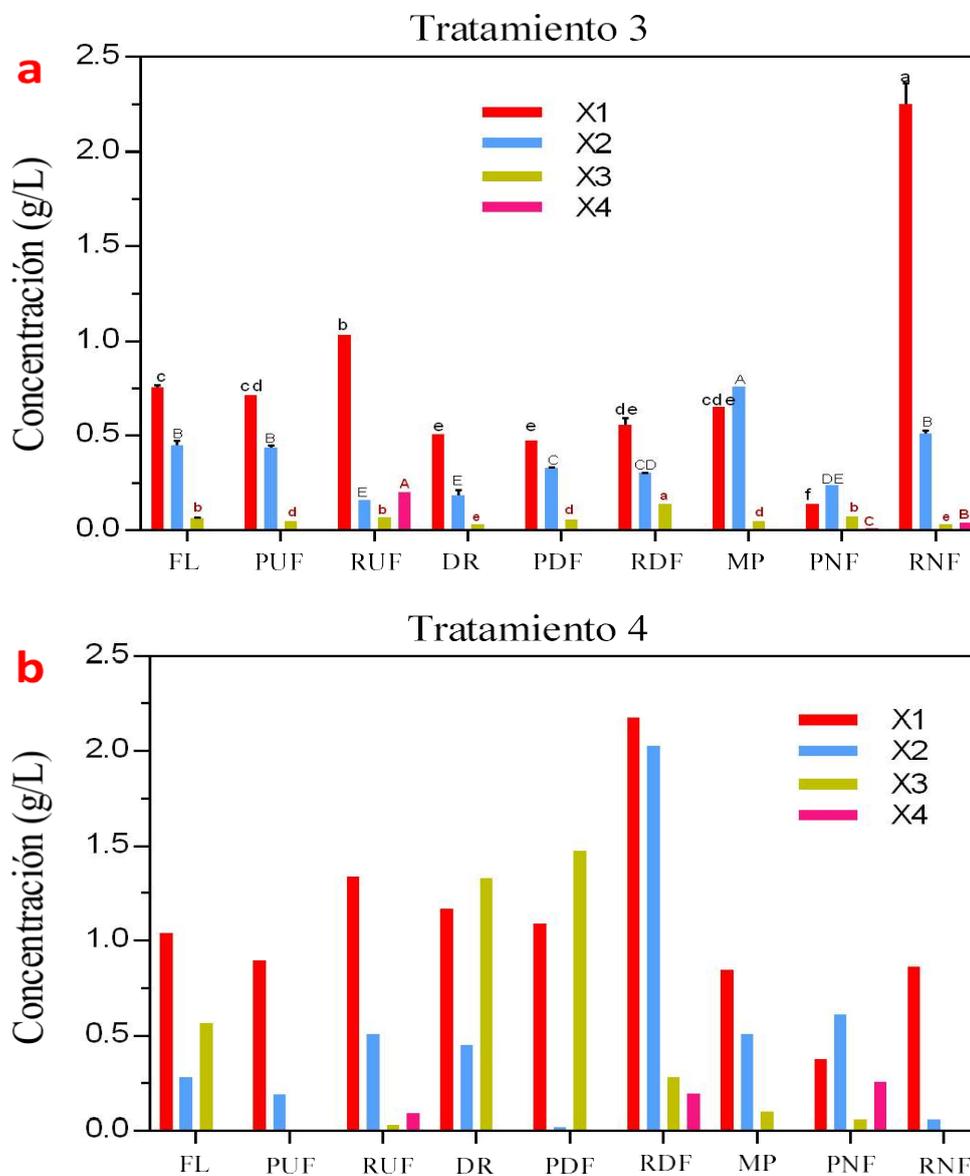
La Tabla 11 muestra que el T3 permitió determinar mayor concentración de celobiosa y xilosa, mientras que en el T4 se observó una superior liberación de glucosa. Estos resultados sugieren que existe bajas cantidades de azúcares que permanecen en los sólidos posterior al tratamiento hidrotermal. La muestra libre de extractivos presenta menor concentración de azúcares. El análisis ANOVA con un nivel del 95.0% de confianza y la evaluación Tukey se muestran en el Anexo 5.

3.5. Purificación de XOS utilizando membranas

La fracción líquida recuperada del tratamiento hidrotermal se sometió a una purificación de XOS empleando membranas de UF (10 kDa) y NF (150 Da). Posteriormente, se analizaron las fracciones retenidas y permeadas en cada etapa de UF, DF y NF, donde se evaluó la concentración de los componentes de interés. La Figura 6 muestra las concentraciones de XOS de los tratamientos T3 y T4, respectivamente. La fracción líquida de los tratamientos T1 y T2 no fueron considerados en la etapa de purificación debido a sus resultados.

Figura 6

Concentración de XOS a través del sistema de purificación de membranas en la ultrafiltración (UF), diafiltración (DF) y nanofiltración (NF)



Nota. Concentración de X1, X2, X3 y X4 en los procesos de UF, DF y NF. FL (fracción líquida), PUF (permeado de la UF), RUF (retentado de la UF), DR (dilución del RUF), PDF (permeado de la DF), RDF (retentado de la DF), MP (mezcla de PUF + PDF), PNF (permeado de la NF) y RNF (retentado de la NF).

La Figura 6 muestra la concentración de xilooligosacáridos detectadas durante el proceso de filtración, donde se emplearon membranas de ultrafiltración

y nanofiltración; se detectaron concentraciones de xilosa, xilobiosa y xilotriosa en todo el proceso secuencial del filtrado. La Figura 6a muestra la máxima concentración de X1 con 2.17 g/L en la fracción del RNF y la menor concentración de X1 fue 0.14 g/L detectada en el PNF, a diferencia, de la concentración de X4 que sólo se detectó 0.2 g/L en el RUF y una menor liberación de 0.12 g/L en el RNF. La mayor liberación de X2 fue 0.76 g/L en la MP (pH 4.5) resultantes de la UF y DF, se registró la menor concentración de 0.16 g/L en el RUF y en la DR. Finalmente, la mayor liberación de X3 fue 0.14 g/L, se detectó en la fracción RDF y la menor concentración de 0.3 g/L en la DR y en el RNF.

La Figura 6b muestra que la máxima concentración de X1 es 2.17 g/L detectada en el RDF y la menor concentración fue 0.38 g/L, se registró en la fracción PNF. Seguidamente se detectó una importante concentración de X2, obteniéndose la mayor liberación 2.03 g/L en el RDF y la menor concentración fue 0.06 g/L en la fracción RNF. La mayor concentración de X3 fue 1.48 g/L, se detectó en la fracción PDF y la menor liberación de 0.03 g/L en RUF. La mayor liberación de X4 fue 0.26 g/L, detectada en la fracción PNF. El análisis ANOVA entre tratamientos se muestra en la Tabla 12 y Anexo 6.

Tabla 12

Análisis de Varianza para xilotriosa

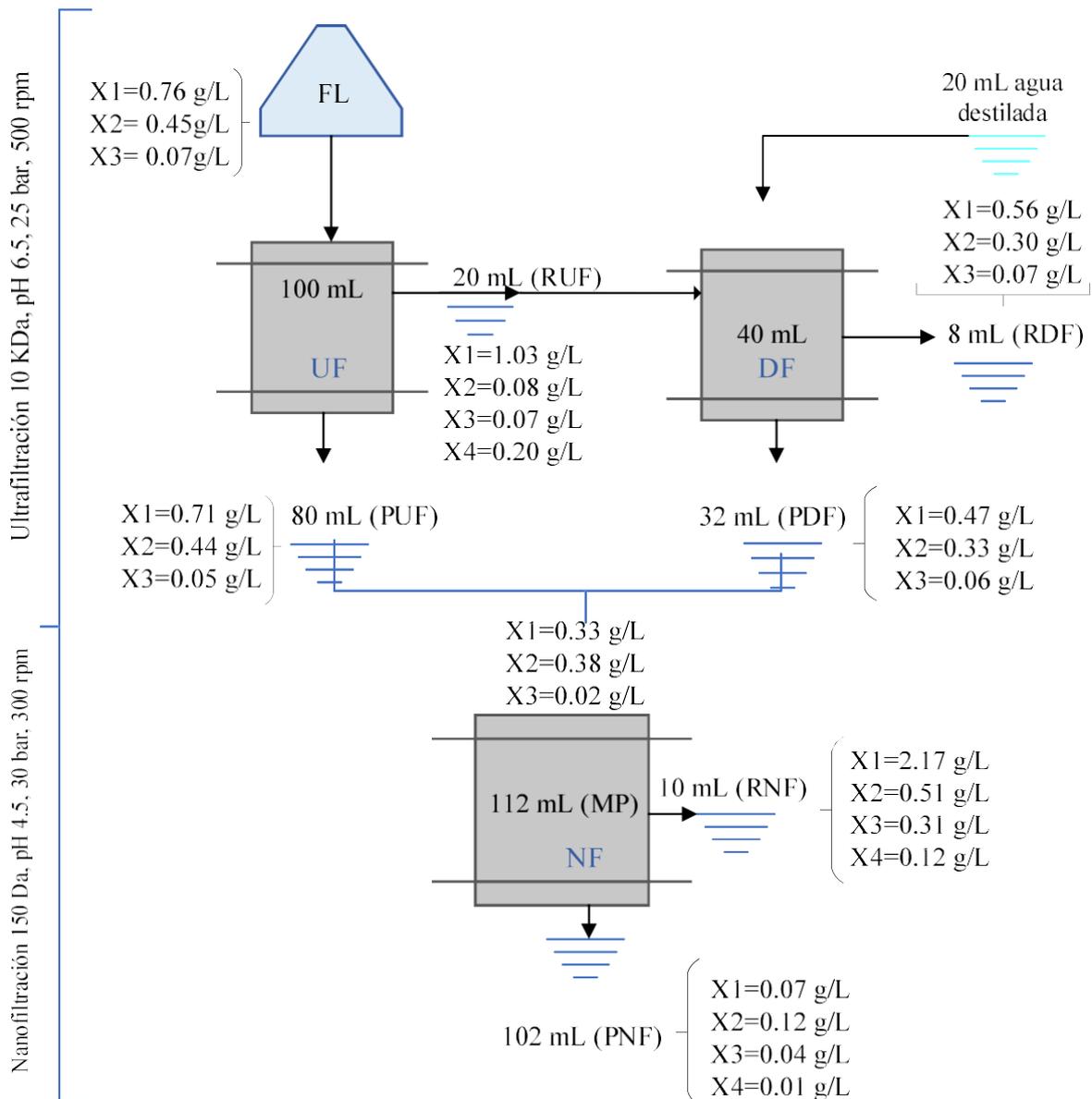
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón -F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento (T3 y T4)	1.17	1	1.17	8.71	0.01
B: Proceso de UF, DF y NF	0.79	8	0.09	0.73	0.66
RESIDUOS	1.48	11	0.13		
TOTAL	3.38	20			

El análisis indica que las variables de tratamiento (T3 y T4) y proceso de UF, DF y NF, no tienen un efecto estadísticamente significativo en la concentración de xilosa y la xilobiosa. A diferencia de la concentración de xilotriosa, el factor A “tratamiento”, si presenta un efecto significativo como se muestra en el Anexo 6. Asimismo, el análisis Tukey identificó dos grupos homogéneos para la X3, muestra

las diferencias significativas de las concentraciones de X3 entre tratamientos. La Figura 7 y 8 muestran el promedio del balance que detalla las concentraciones de XOS del proceso de purificación de T3 y T4.

Figura 7

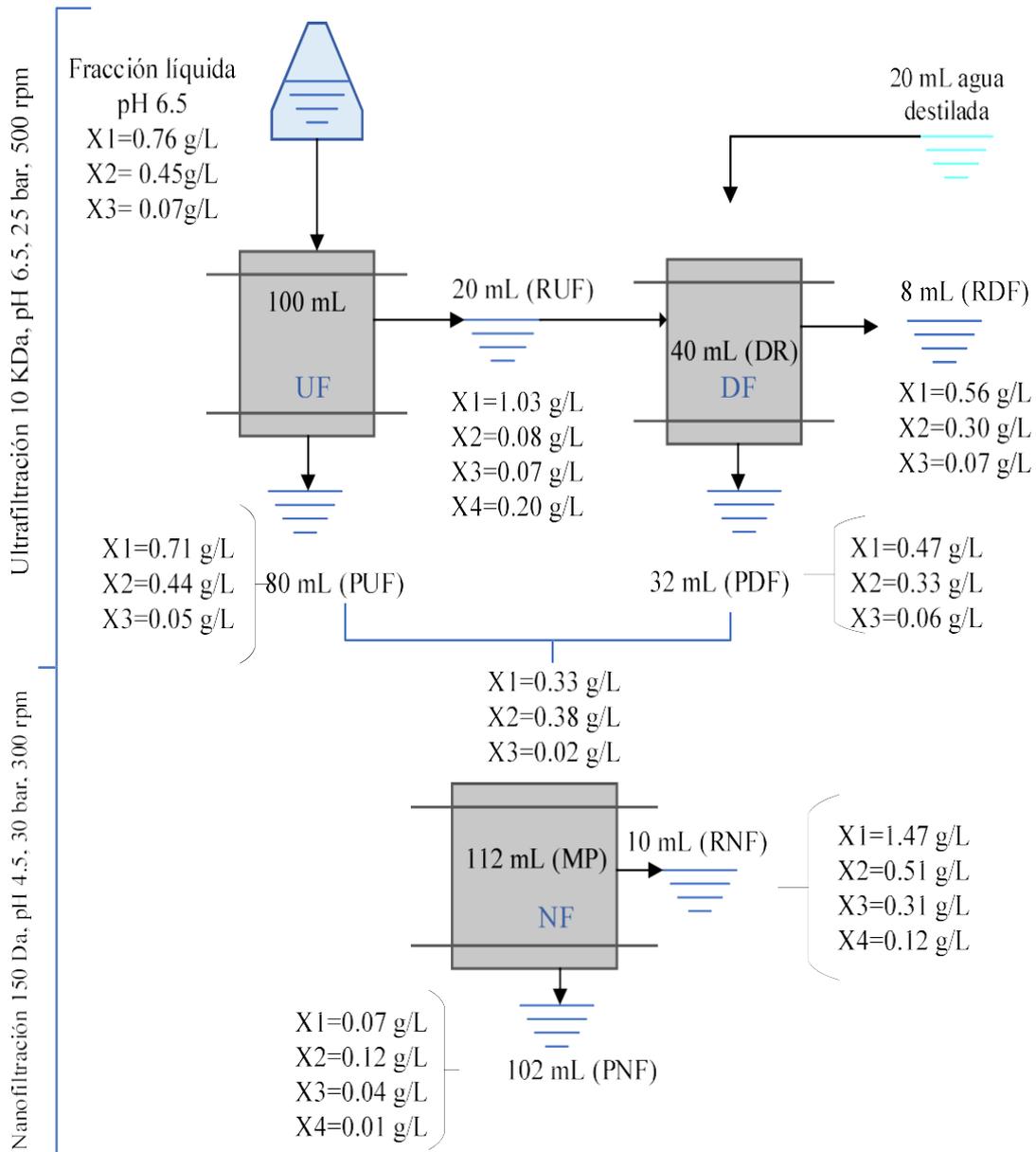
Concentraciones de XOS obtenidas en la ultrafiltración, diafiltración y nanofiltración de T3



Nota. XOS detectado en los permeados y retentados de la ultrafiltración, diafiltración y nanofiltración, la secuencia del proceso se detalla en la Figura 3.

Figura 8

Concentraciones de XOS obtenidas en la ultrafiltración, diafiltración y nanofiltración de T4



Nota. XOS detectado en los retentados y permeados de la ultrafiltración, diafiltración y nanofiltración, la secuencia del proceso se detalla en la Figura 3.

IV. DISCUSIÓN

La composición de la CRC estuvo compuesta principalmente por un 46% de extractivos solubles en agua y etanol, en la caracterización química se determinó las siguientes concentraciones de polímeros; 15% hemicelulosa, 20% celulosa, 27% lignina y 6.9% cenizas. A diferencia de los resultados reportados por otros autores como; de Carvalho et al. (2018) muestran la composición química de la cáscara de café sometida a un pretratamiento con ácido sulfúrico, determinaron 25% de hemicelulosa, 26% de celulosa, 33% de lignina y 0.2% de cenizas, indican que la celulosa y la hemicelulosa son los componentes más solubilizados, debido a sus propiedades o áreas amorfas. Además, afirma que los componentes pueden variar en función a factores como la variedad, condiciones de cultivo y método de procesamiento. En un estudio Setyobudi et al. (2018) evaluaron la cáscara de café para extracción de azúcares y la obtención de bioproductos, de la caracterización química obtuvieron 25.84% de celulosa, 4.37% de hemicelulosa, 12.46% de lignina.

La obtención de XOS a partir de la CRC mediante el tratamiento hidrotermal a 180 °C y a diferentes tiempos de proceso, en el T4 se detectó 16 g/kg como la máxima concentración de X1 a los 30 minutos, el cual contenía un 7% de ácido cítrico. Según Gomes et al. (2020) la presencia de ácido cítrico en el medio tiene una influencia significativa como catalizador. Valladares et al. (2022) reportaron el tratamiento hidrotermal asistido con ácido cítrico de las cáscaras de mazorcas de cacao, estudiaron como variables la temperatura (170 °C), el tiempo (30 min) y la concentración de ácido cítrico (0.5 - 2% p/v), afirmaron que a medida que se incrementó la concentración de ácido, se observó una mayor concentración de xilosa, alcanzando su valor más alto de 69.75 mg/g.

En los tratamientos hidrotermales sin presencia de ácido cítrico de la CRC se obtuvieron las siguientes concentraciones: 14 g/kg de X2 a los 60 minutos en T3, 0.70 g/kg de X3 a los 45 minutos en T3 y 3.67 g/kg de X4 a los 30 minutos de tratamiento en T1. Rosas et al. (2023) estudiaron las concentraciones de XOS a partir de los tallos de quinua aplicando tratamiento hidrotermal a 180 °C a diferentes tiempos, indicaron que la producción de X1 incrementó con el tiempo de hidrólisis alcanzando 14 mg/g de material seco en 45 min. Respecto a la xilobiosa y xilotriosa,

la máxima concentración se obtuvo a los 30 min, a los 10 minutos fue similar la concentración. Asimismo, las óptimas condiciones de tiempo para la mayor producción de xilotetraosa fue a los 20 min. Corrales et al. (2023) reportaron la obtención de XOS a partir de cáscara de arroz aplicando tratamiento hidrotermal, afirmaron que las temperaturas de 160 y 170 °C, no promueven la producción de XOS, únicamente observaron X1 en concentraciones menores a 1g/L. Sin embargo, indicaron que detectaron concentraciones de xilooligosacáridos a 180 °C y 190 °C por un tiempo de hidrotermal de 68 min y 34 min respectivamente, lo cual permitió obtener cantidades superiores a 3 g/L de XOS. Rosas et al. (2023) indican que los tallos de quinua, a temperaturas más bajas (160 - 170) °C se promueve la formación de xilopentaosa (X5), xilohexaosa (X6) con un grado de polimerización (DP) mayor a 6.

En el presente estudio la variable “tiempo hidrotermal” no fue significativo para las concentraciones de X1 y X2, pero si lo fue para las concentraciones de X3 y X4. Investigaciones previas, indican que el perfil de XOS obtenido a través del tratamiento hidrotermal se ve principalmente influenciado por el tiempo de tratamiento y la temperatura. Se ha sugerido que la capacidad de lograr resultados comparables con presiones más bajas representa una ventaja económica para el proceso, dado que la presión se emplea primordialmente para mantener el agua en estado líquido. A pesar de ello, diversos autores indican que una presión elevada contribuye a la hidratación de la matriz de la muestra, lo que conlleva a una mayor eficiencia en la extracción (Plaza y Turner, 2015; Monteiro et al., 2021; Ávila et al., 2020; Corrales et al., 2023 y Rosas et al., 2023).

La cuantificación de compuestos fenólicos de la cáscara residual de café posterior a la caracterización química y tratamiento hidrotermal se muestra en la Tabla 9, también se analizó una muestra sin tratamiento, muestra natural (MN); en las cuales se detectó una alta concentración de fenólicos. Bondam et al. (2022) reportaron que la cáscara de café es rica en ácidos clorogénico, cafeico, ferúlico y cumárico; además, afirman que la concentración de los compuestos fenólicos depende del solvente de extracción. Asimismo, enfatizan sus propiedades para la salud, como antioxidante, antiinflamatorio y antimicrobiano, así como su capacidad para neutralizar radicales libres. Manasa et al. (2021) en un estudio aislaron pectina

y polifenoles de la cáscara de café mediante el método de precipitación simple, lograron una concentración de polifenoles del 4%, siendo los principales identificados mediante HPLC el ácido gálico, la vainillina, la catequina, el etilcatecol, el cumárico, el cafeico y el ferúlico. Monteiro et al. (2021) afirman que la presencia de compuestos fenólicos en el extracto rico en XOS dependería del grado de purificación requerido para su aplicación final.

La fracción sólida de la cáscara residual de café resultante del tratamiento hidrotermal (T2, T3 y T4), fue sometida a una caracterización química, la cual muestran una reducida concentración de hemicelulosa, celulosa y lignina soluble como se observa en la Tabla 10; también, se realizó una hidrólisis enzimática de la fracción sólida, que permitió obtener concentraciones mínimas de xilosa, celobiosa, glucosa y arabinosa, como se observa en la Tabla 11. Los resultados nos indican que gran parte de azúcares de la CRC fueron solubilizados durante el tratamiento hidrotermal. Rosas et al. (2023) indicaron que los sólidos obtenidos del tratamiento hidrotermal a 180 °C, obtuvieron 52% de celulosa y 54% de la hemicelulosa, que se convirtió en xilosa y XOS. El tratamiento hidrotermal redujo en parte la cantidad de lignina, lo que resultó en un aumento de la porosidad y el área superficial del material, esto hizo que fuera más susceptible a la acción de las enzimas. Por lo tanto, obtuvieron concentraciones favorables de azúcares fermentables a partir del tallo de quinua.

El tratamiento hidrotermal se ha propuesto como una alternativa prometedora para la producción de XOS con un bajo grado de polimerización de 2 a 6, que influye en la tasa de metabolismo de las bacterias probióticas como las *Bifidobacterias* y *Lactobacillus*, en donde las moléculas de XOS como X2, X3 y X4 son fácilmente consumidas por estas bacterias probióticas (Fehlbaum et al., 2018 y Poletto et al., 2020). La xilosa carece de efecto prebiótico y su alta concentración puede implicar costos elevados en la etapa de purificación de XOS, los niveles elevados de xilosa indican una despolimerización de los oligosacáridos en azúcares monoméricos; el tratamiento hidrotermal actúa de manera no selectiva y aleatoria, lo que resulta en la liberación de xilosa durante la fragmentación de las cadenas de xilano (Cocero et al., 2018). Por lo tanto, es necesario ajustar los

parámetros de proceso para evitar la acumulación excesiva de xilosa, someter a un sistema de purificación los extractos.

Las concentraciones de XOS obtenidos en el proceso de purificación, empleando membranas de UF y NF, fue un total de 2.8 g/L de X1 y 1.55 g/L de X2, X3 y X4 del T3, se logró 3.42 g/L de X1 y 3.48 g/L de X2, X3 y X4 del T4, cuantificándose un total de 6.22 g/L de xilosa y 5.03 g/L de X2, X3 y X4, la concentración de los componentes se detalla en las Figuras 7 y 8. Rosas et al. (2023) afirman que a pH 4.5 se observó que el flujo de permeado mermo, pero al aumentar el pH, las membranas poliméricas adquirieron una carga negativa, lo que las saturó y las volvió hidrofílicas, permitiendo así un mayor flujo de permeado. Mänttäre et al. (2006) indican que se podría explicar por la repulsión electrostática entre la membrana y los pigmentos que tienen carga negativa a un pH elevado, lo que resulta en una menor adsorción hidrofóbica de los pigmentos en la membrana. Wijaya et al. (2020) indican que el método de purificación con membranas es de gran importancia, dado que la producción de XOS con fines alimenticios requiere un grado de pureza del 75 a 95%, debido que su acción probiótica depende de ello; la presencia de impurezas en el extracto rico en XOS incrementa el valor calórico y modifica la dulzura.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- Se logró transformar la cáscara residual de café variedad catimor mediante procesos biotecnológicos, logrando obtener carbohidratos de alto valor comercial en forma de xilooligosacáridos, prebióticos que promueven el crecimiento de bacterias beneficiosas en el intestino humano.
- La caracterización química de la cáscara residual de café, permitió determinar un 46% de extractivos y analizar la presencia de carbohidratos totales como 20% celulosa, 15% hemicelulosa, 27% lignina y 6.9% cenizas, en la cáscara residual de café variedad catimor.
- Se evaluó los tratamientos T1, T2, T3 y T4 analizando la concentración de XOS, considerando las variables de estudio como la temperatura, el tiempo, la dilución de biomasa/agua, y la presencia de ácido cítrico. Se determinó que T3 presentó las mejores condiciones para la liberación de XOS, es decir presentó mayor cantidad de moléculas con efecto prebiótico.
- Se concentró las fracciones líquidas obtenidas del tratamiento hidrotermal (T3 y T4), a través del sistema de filtración con membranas de ultrafiltración y nanofiltración, que permitió cuantificar un total de 6.22 g/L de xilosa y 5.03 g/L de xilobiosa, xilotriosa y xilotetraosa de alto valor comercial en la industria de alimentos.

Recomendaciones

En base a lo experimentado, se recomienda lo siguiente:

- Evaluar procesos de hidrólisis enzimática utilizando enzimas (xilanasas) para comparar el rendimiento de XOS a partir de la cáscara residual de café.
- Estudiar los extractivos solubles en agua y etanol porque representan el 46% de la biomasa (cáscara residual de café), podría contener componentes de interés debido a su pigmentación.
- Estudiar otras variedades de cáscara de café que se cultivan en la zona, evaluando las variables y parámetros como concentración de ácido cítrico, presión, temperatura, tiempo del tratamiento hidrotérmico para maximizar la producción de XOS.
- Se recomienda seguir estudiando la cáscara residual de café, sus concentraciones de hemicelulosa y su composición química en general.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Atabani, A. E., Ala'a, H., Kumar, G., Saratale, G. D., Aslam, M., Khan, H. A., Said, Z., & Mahmoud, E. (2019). Valorization of spent coffee grounds into biofuels and value-added products: Pathway towards integrated bio-refinery. *Fuel*, 254. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.115640>
- Ávila, P. F., Martins, M., de Almeida Costa, F. A., & Goldbeck, R. (2020). Xylooligosaccharides production by commercial enzyme mixture from agricultural wastes and their prebiotic and antioxidant potential. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 24(May), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2020.100234>
- Batista, L. R., & de Souza, S. M. C. (2016). Coffee: Types and production. *Encyclopedia of Food and Health; Academic Press: USA*, 244 – 251. <https://www.sciencedirect.com/topics/food-science/coffee>
- Bondam, A. F., da Silveira, D. D., dos Santos, J. P., & Hoffmann, J. F. (2022). Phenolic compounds from coffee by-products: Extraction and application in the food and pharmaceutical industries. *Trends in Food Science & Technology*, 123, 172–186. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.03.013>
- Cebin, A. V., Ralet, M.-C., Vigouroux, J., Karača, S., Martinić, A., Komes, D., & Bonnin, E. (2021). Valorisation of walnut shell and pea pod as novel sources for the production of xylooligosaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 263. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117932>
- Cocero, M. J., Cabeza, Á., Abad, N., Adamovic, T., Vaquerizo, L., Martínez, C. M., & Pazo-Cepeda, M. V. (2018). Understanding biomass fractionation in subcritical & supercritical water. *The Journal of Supercritical Fluids*, 133, 550 – 565. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.08.012>
- Corim, A. V., & Gabardo, S. (2021). Xylooligosaccharides: prebiotic potential from agro-

- industrial residue, production strategies and prospects. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 37. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102190>
- Corrales, A., Sanchez, S., Severo, I., Sanchez, P., Soares, B., Silva, S. da, Santos, C. dos, & Terán Hilares, R. (2023). Valorization of rice husk by hydrothermal processing 1 to obtain valuable 2 bioproducts: xylooligosaccharides and *Monascus* biopigment. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 6. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666893923000798>
- de Carvalho, Keerthi Srinivas, L. Helms, G. Isern d, John. Cort., Adilson Gonçalves, B. K. (2018). Characterization of coffee (*Coffea arabica*) husk lignin and degradation products obtained after oxygen and alkali addition. *Bioresource Technology*, 257, 172-180. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.041>
- Dilas-Jiménez, J., & Cernaqué, O. (2021). Enfoque Sial como estrategia para la producción y comercialización del café especial tostado en el norte del Perú. *Alpha centauri*, 2(2). [doi:https://doi.org/10.47422/ac.v2i2.31](https://doi.org/10.47422/ac.v2i2.31)
- Durán-Aranguren, D. D., Robledo, S., Gomez-Restrepo, E., Arboleda Valencia, J. W., & Tarazona, N. A. (2021). Scientometric overview of coffee by-products and their applications. *Molecules*, 26(24). <https://doi.org/10.3390/molecules26247605>
- Fehlbaum, S., Prudence, K., Kieboom, J., Heerikhuisen, M., Van den Broek, T., Schuren, F. H. J., Steinert, R. E., & Raederstorff, D. (2018). In Vitro Fermentation of Selected Prebiotics and Their Effects on the Composition and Activity of the Adult Gut Microbiota. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(10). <https://doi.org/10.3390/ijms19103097>
- Fernández-Cortés, Y., Sotto, K., & Vargas, L. (2020). aprovechamiento sustentable de los residuos generados. *Revista producción más limpia*, 15(1), 93 – 110. <https://doi.org/10.22507/pml.v15n1a7>

- Gomes, M. G., Gurgel, L. V. A., Baffi, M. A., & Pasquini, D. (2020). Pretreatment of sugarcane bagasse using citric acid and its use in enzymatic hydrolysis. *Renewable Energy*, *157*, 332–341. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.05.002>
- Instituto Nacional de Estadística e Informática. (Junio de 2023). *www.inei.gob.pe*. Obtenido de https://www.inei.gob.pe/media/principales_indicadores/03-informe-tecnico-produccion-nacional-ene-2022.pdf
- Manasa, V., Padmanabhan, A., & Anu Appaiah, K. A. (2021). Utilization of coffee pulp waste for rapid recovery of pectin and polyphenols for sustainable material recycle. *Waste Management*, *120*, 762–771. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.10.045>
- Mänttari, M., Pihlajamäki, A., & Nyström, M. (2006). Effect of pH on hydrophilicity and charge and their effect on the filtration efficiency of NF membranes at different pH. *Journal of Membrane Science*, *280*(1), 311–320. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.memsci.2006.01.034>
- Monteiro, C., Avila, P., Pereira, M., Pereira, G., Bordignon, S., Zanella, E., Stambuk, B., De Olivera, D., Goldbeck, R., & Poletto, P. (2021). Hydrothermal treatment on depolymerization of hemicellulose of mango seed shell for the production of xylooligosaccharides. *Polímeros de Carbohidratos*, *253*, 1 – 8. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117274>
- Palaniappan, A., Antony, U., & Emmambux, M. N. (2021). Current status of xylooligosaccharides: Production, characterization, health benefits and food application. *Trends in Food Science & Technology*, *111*, 506 – 519. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.047>
- Pinales-Márquez, C. D., Rodríguez-Jasso, R. M., Araújo, R. G., Loredó-Treviño, A., Nabarlatz, D., Gullón, B., & Ruiz, H. A. (2021). Circular bioeconomy and integrated biorefinery

- in the production of xylooligosaccharides from lignocellulosic biomass: A review. *Industrial Crops and Products*, 162. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113274>
- Plaza, M., & Turner, C. (2015). Pressurized hot water extraction of bioactives. *Trac Trends in Analytical Chemistry*, 71, 39–54. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.02.022>
- Poletto, P., Pereira, G. N., & Bordignon, S. E. (2020). Xilooligosacáridos: transformando las biomásas lignocelulósicas en valiosos prebióticos de azúcar de 5 carbonos. *Process biochemistry*, 91, 352–363. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.01.005>
- Ratnadewi, A. A. I., Amaliyah Zain, M. H., Nara Kusuma, A. A. N., Handayani, W., Nugraha, A. S., & Siswoyo, T. A. (2020). Lactobacillus casei fermentation towards xylooligosaccharide (XOS) obtained from coffee peel enzymatic hydrolysate. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 23. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101446>
- Rebollo-Hernanz, M., Cañas, S., Taladrid, D., Benítez, V., Bartolomé, B., Aguilera, Y., & Martín-Cabrejas, M. A. (2021). Revalorization of Coffee Husk: Modeling and Optimizing the Green Sustainable Extraction of Phenolic Compounds. *Foods*, 10(3). <https://doi.org/10.3390/foods10030653>
- Rosas, F. E., Sanchez Muñoz, S., Severo Gonçalves, I., Terán Hilares, F., Rocha Balbino, T., Soares Forte, M. B., da Silva, S. S., dos Santos, J. C., & Terán Hilares, R. (2023). Carbohydrates valorization of Quinoa (Chenopodium quinoa) stalk in xylooligosaccharides and carotenoids as emergent biomolecules. *Industrial Crops and Products*, 194. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.116274>
- Santibáñez, L., Henríquez, C., Corro-Tejeda, R., Bernal, S., Armijo, B., & Salazar, O. (2021).

- Xylooligosaccharides from lignocellulosic biomass: A comprehensive review. *Carbohydrate Polymers*, 251. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117118>
- Setyobudi, R. H., Wahono, S. K., Adinurani, P. G., Wahyudi, A., Widodo, W., Mel, M., Nugroho, Y. A., Prabowo, B., & Liwang, T. (2018). Characterisation of Arabica Coffee Pulp - Hay from Kintamani - Bali as Prospective Biogas Feedstocks. *Matec Web Conferences*, 168, 13. <https://doi.org/https://doi.org/10.1051/mateconf/201816401039>
- Singleton, V., & Rossi, J. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Society for Enology and Viticulture*. doi:10.5344/ajev.1965.16.3.144
- Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., & Templeton, D. (2012). Determinación de carbohidratos estructurales y lignina en la biomasa Determinación de carbohidratos estructurales y lignina en la biomasa. *Laboratorio Nacional de Energía Renovable (NREL)*. <https://www.nrel.gov/docs/gen/fy13/42618.pdf>
- Valladares, K. K., Porto de Souza Vandenberghe, L., Zevallos Torres, L. A., Zandoná Filho, A., Lorenci Woiciechowski, A., & Ricardo Soccol, C. (2022). Citric acid assisted hydrothermal pretreatment for the extraction of pectin and xylooligosaccharides production from cocoa pod husks. *Bioresource Technology*, 343. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126074>
- Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y., & Wang, C. (2009). Enzymatic preparation of wheat bran xylooligosaccharides and their stability during pasteurization and autoclave sterilization at low pH. *Carbohydrate Polymers*, 77(4), 816 – 821. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.03.005>
- Waterhouse, A. L. (2002). Determination of total phenolics. *Current Protocols in Food*

<https://currentprotocols.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/0471142913.fai0101>

s06

Wijaya, H., Sasaki, K., Kahar, P., Rahmani, N., Hermiati, E., Yopi, Y., Ogino, C., Prasetya, B., & Kondo, A. (2020). High Enzymatic Recovery and Purification of Xylooligosaccharides from Empty Fruit Bunch via Nanofiltration. In *Processes*, 8(5). <https://doi.org/10.3390/pr8050619>

DEDICATORIA

El presente proyecto de investigación está dedicado a Dios, por darme la fortaleza y guiarme. También quiero expresar mi agradecimiento a mis padres, Verbelinda Huamán Bustamante y Pastor Roncal Ocaña, a mi hermana Jesenia Roncal Huamán, por su apoyo y constante motivación. Su respaldo ha sido fundamental no solo en la realización de este proyecto, sino también a lo largo de mi formación profesional. Asimismo, a mis docentes, asesores y compañeros, quienes han sido parte de esta extraordinaria experiencia universitaria.

Iris Paola Roncal Huamán

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mis asesores, la Dra. Delicia Liliana Bazán Tentaleán y el Ing. James Euler Villar Estrada y al PhD. Ruly Terán Hilares, por su orientación en la planificación, ejecución y redacción del presente proyecto. A PROINTEC 2021 por financiar el proyecto “Producción de kefir fermentado con cáscara residual del café enriquecido con xilooligosacáridos”.

Agradecer a los productores de café de los caseríos: Las Sidras en La Coipa (San Ignacio), El Laurel en Las Pirias y Santa Fé en Jaén, por facilitarme el material biológico para llevar a cabo esta investigación.

Además, expreso mi gratitud a la Universidad Nacional de Jaén por proporcionarme el Laboratorio de Tecnología de Alimentos, a la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza por facilitarme el Laboratorio de Postcosecha, y a la Universidad Católica de Santa María por brindarme el Laboratorio de Bioprocesos.

Sin la colaboración y el apoyo de las instituciones y personas mencionadas, este proyecto no habría sido posible. A todos ellos, gracias.

ANEXOS

Anexo 1. Galería de fotos

Figura 9

Lavado de los granos de café



Figura 10

Beneficio húmedo del café



Figura 11

Cáscara de café lista para secar en estufa



Figura 12

Cáscara de café en proceso de secado a 50 °C



Figura 13

Tamices para seleccionar el tamaño de partícula de cáscara de café



Figura 14

Cáscara de café seca, molturada y tamizada



Figura 15

Muestras para el proceso de extracción



Figura 16

Batería soxhlet de extracción con etanol



Figura 17

Batería soxhlet de extracción con agua destilada



Figura 18

Extracto líquido (1 extracción con etanol y 3 extracciones con agua)



Figura 19

Material sólido insoluble en etanol y agua, secado en estufa a 60 °C



Figura 20

Muestras libres de extractivos se almacenó en envases herméticos



Figura 21

Baño maría de las muestras por triplicado con H₂SO₄ al 72% (p/p)

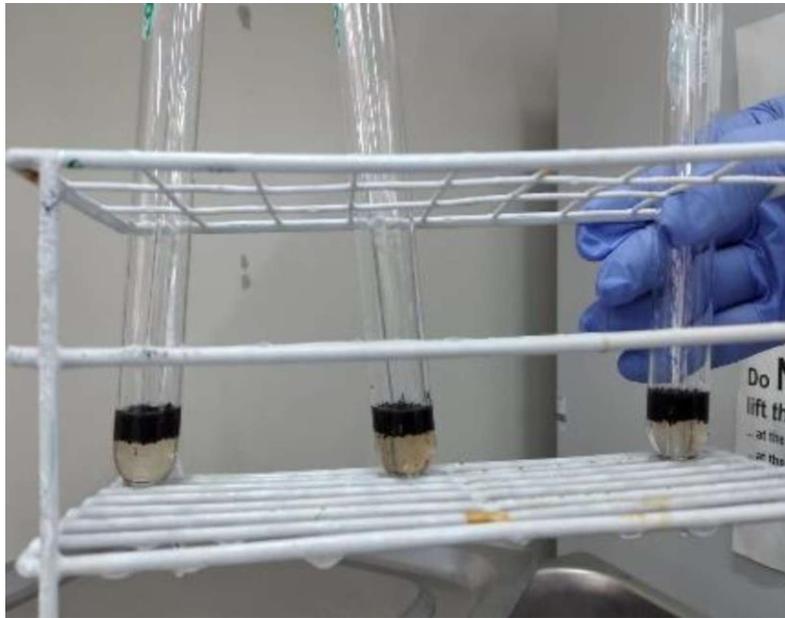


Figura 22

Autoclave de las muestras por triplicado con H₂SO₄ al 72% (p/p)



Figura 23

Concentrados para filtrar en una bomba de vacío



Figura 24

Filtrado utilizando bomba de vacío y crisoles Gooch N° 3



Figura 25

Análisis de azúcares por HPLC



Figura 26

Análisis de lignina soluble y fenoles por espectrofotometría UV-Visible



Figura 27

Determinación de cenizas



Figura 28

Dilución 40 g de muestra/400 mL de agua destilada para el tratamiento hidrotermal



Figura 29

Tratamiento hidrotermal en Reactor Parr de 1L



Figura 30

Análisis en HPLC de la fracción líquida recuperada del tratamiento hidrotermal

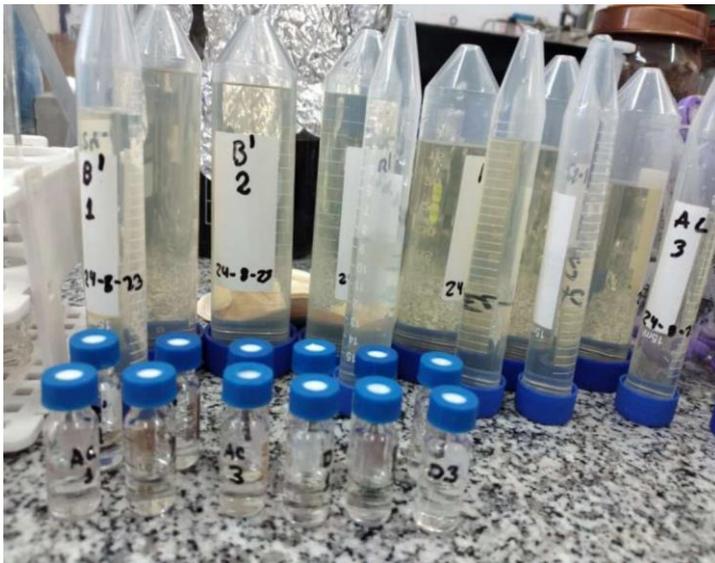


Figura 31

Incubadora con agitación - hidrolisis enzimática de la fracción sólida



Figura 32

Sistema de filtración acoplado a una línea de nitrógeno



Figura 33

Membranas de Ultrafiltración (color crema) y Nanofiltración (color lila)



Figura 34

Proceso de ultrafiltración, diafiltración y nanofiltración



Figura 35

Fracción retenida (oscuro) y fracción permeada (claro) en la NF

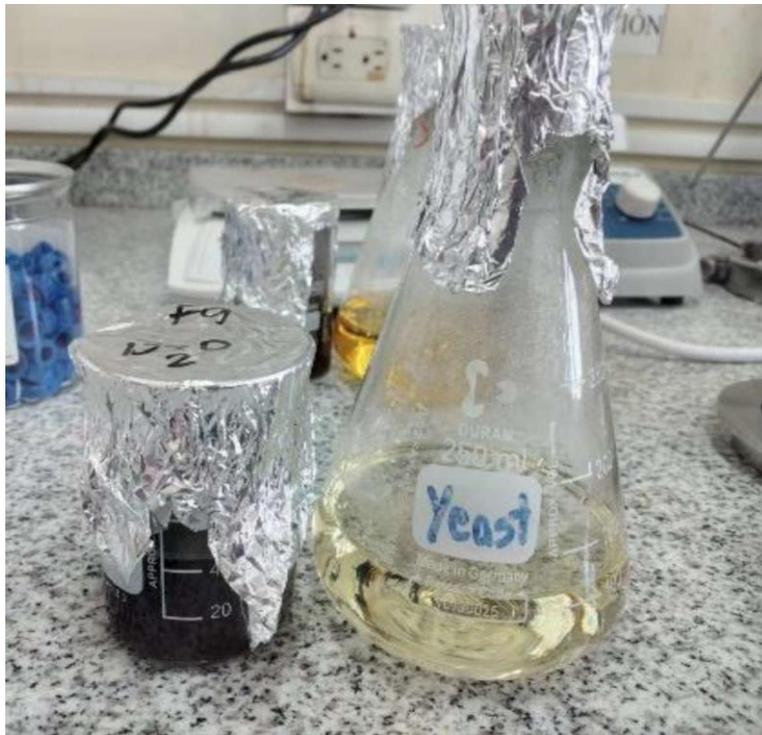


Figura 36

Análisis de la concentración de azúcares y XOS en HPLC

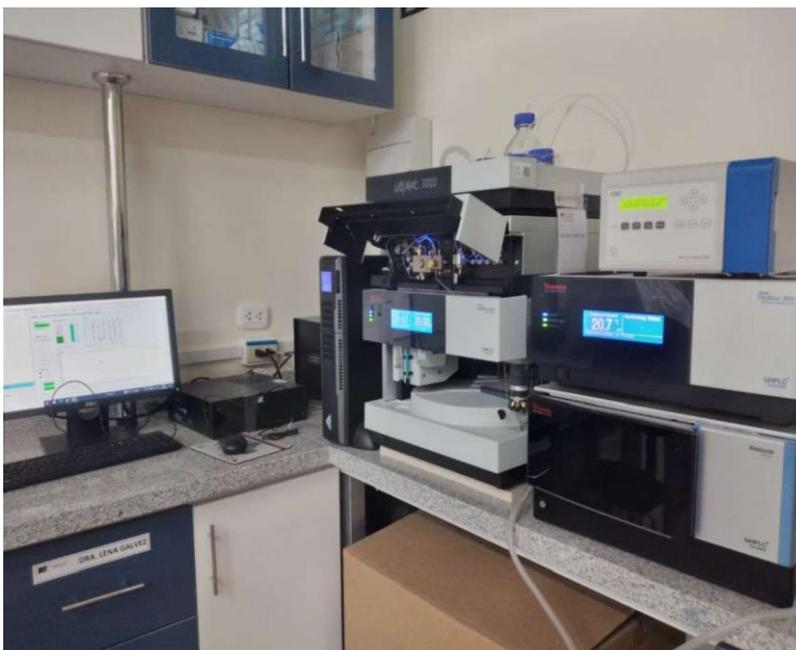
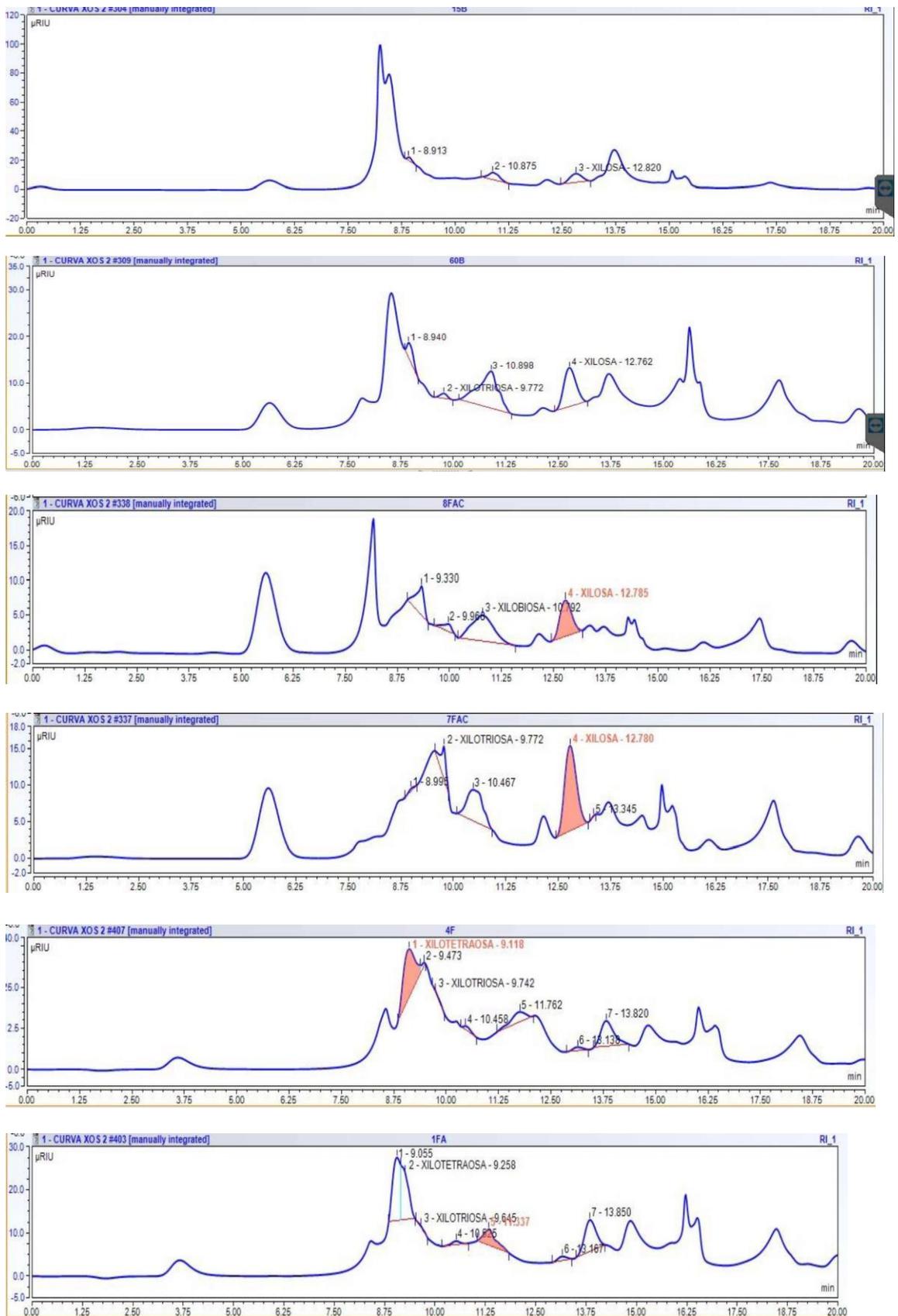


Figura 37

Cromatogramas de las concentraciones detectadas por HPLC



Anexo 2. Análisis de ANOVA y Tukey del tratamiento hidrotermal

Análisis de Varianza para xilosa - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamientos	327.40	3	109.13	92.13	0.00
B: Tiempo de tratamiento	8.99	3	2.99	2.53	0.09
RESIDUOS	18.95	16	1.18		
TOTAL	355.45	22			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Pruebas de Múltiple Rangos para xilosa por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Tratamiento	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
2	4	3.62	0.544174	X
3	8	6.42	0.384789	X
1	4	7.85	0.5994	X
4	7	13.86	0.415479	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	4.22857	2.31726
1 - 3		1.43037	2.03878
1 - 4	*	-6.01085	2.12575
2 - 3	*	-2.79819	1.90767
2 - 4	*	-10.2394	1.9597
3 - 4	*	-7.44122	1.62091

* indica una diferencia significativa.

Análisis de Varianza para xilobiosa - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamientos	150.507	3	50.1692	4.40	0.0263
B: Tiempo de tratamiento	28.3804	3	9.46013	0.83	0.5031
RESIDUOS	136.954	12	11.4128		
TOTAL (CORREGIDO)	299.392	18			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Pruebas de Múltiple Rangos para xilobiosa por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Tratamiento	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
2	3	1.63404	2.02334	X
1	4	6.12197	1.92555	XX
4	4	6.60379	1.81466	XX
3	8	9.90565	1.19441	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		4.48793	7.97135
1 - 3		-3.78368	6.74777
1 - 4		-0.481822	8.40505
2 - 3	*	-8.27161	6.99691
2 - 4		-4.96975	8.42766
3 - 4		3.30186	6.46949

* indica una diferencia significativa.

Análisis de Varianza para xilotriosa - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamientos	0.32	2	0.16	170.11	0.00
B: Tiempo de tratamiento	0.029	2	0.01	15.55	0.00
RESIDUOS	0.01	8	0.00		
TOTAL (CORREGIDO)	0.36	12			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Pruebas de Múltiple Rangos para xilotriosa por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Tratamiento	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
2	5	0.294001	0.0139496	X
1	2	0.614687	0.022627	X
3	6	0.62575	0.0125222	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	0.320687	0.0768315
1 - 3		-0.0110627	0.0737692
2 - 3	*	-0.331749	0.0534724

* indica una diferencia significativa.

Pruebas de Múltiple Rangos para xilotriosa por tiempo

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>tiempo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
60	5	0.451102	0.0141067	X
30	4	0.515882	0.0156314	X
45	4	0.567454	0.0174042	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
30 - 45		-0.0515717	0.0647821
30 - 60	*	0.0647807	0.0592026
45 - 60	*	0.116352	0.0603598

* indica una diferencia significativa.

Análisis de Varianza para xilotetraosa - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamientos	8.02	1	8.01	801.58	0.00
B: Tiempo de tratamiento	4.67	1	4.67	467.25	0.00
RESIDUOS	0.02	2	0.01		
TOTAL (CORREGIDO)	9.25	4			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Pruebas de Múltiple Rangos para xilotetraosa por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Trat</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
2	1	-0.937725	0.111827	X
1	4	2.53052	0.0500104	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
1 - 2	*	3.46825	0.527075

* indica una diferencia significativa.

Pruebas de Múltiple Rangos para xilotetraosa por tiempo

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tiempo</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
60	2	-0.284625	0.0935609	X
30	3	1.87742	0.06125	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
30 - 60	*	2.16205	0.430355

* indica una diferencia significativa.

Anexo 3. Análisis de ANOVA de la cuantificación de compuestos fenólicos

Tabla ANOVA para Fenólicos por Muestra

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	8656.76	3	2885.59	199.42	0.0000
Intra grupos	115.758	8	14.4697		
Total	8772.52	11			

Pruebas de Múltiple Rangos para Fenólicos por Muestra

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Muestra</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
CQ	3	1.28667	X
T2	3	50.4667	X
T3	3	66.01	X
T4	3	67.5967	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
CQ - T2	*	-49.18	9.94256
CQ - T3	*	-64.7233	9.94256
CQ - T4	*	-66.31	9.94256
T2 - T3	*	-15.5433	9.94256
T2 - T4	*	-17.13	9.94256
T3 - T4		-1.58667	9.94256

* indica una diferencia significativa.

Anexo 4. Análisis de ANOVA de la caracterización química de la fracción sólida

Tabla ANOVA para Hemicelulosa por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	504.622	2	252.311	2809.97	0.0000
Intra grupos	0.359165	4	0.0897913		
Total	504.981	6			

Pruebas de Múltiple Rangos para Hemicelulosa por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T4	3	1.3526	X
T3	2	11.8982	X
T2	2	21.6898	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
T2 - T3	*	9.79155	1.06777
T2 - T4	*	20.3372	0.974736
T3 - T4	*	10.5456	0.974736

* indica una diferencia significativa.

Tabla ANOVA para Celulosa por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0.907283	2	0.453642	0.39	0.6971
Intra grupos	5.84447	5	1.16889		
Total	6.75175	7			

Pruebas de Múltiple Rangos para Celulosa por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T2	2	13.1	X
T4	3	13.5133	X
T3	3	13.96	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
T2 - T3		-0.86	3.21135
T2 - T4		-0.413333	3.21135
T3 - T4		0.446667	2.87232

* indica una diferencia significativa.

Tabla ANOVA para Lignina soluble por Tratamiento

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	23.5913	2	11.7957	186.17	0.0000
Intra grupos	0.316798	5	0.0633596		
Total	23.9081	7			

Pruebas de Múltiple Rangos para Lignina soluble por Tratamiento

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T3	3	3.37533	X
T2	2	3.4205	X
T4	3	6.94033	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
T2 - T3		0.0451667	0.747664
T2 - T4	*	-3.51983	0.747664
T3 - T4	*	-3.565	0.668731

* indica una diferencia significativa.

Anexo 5. Análisis de ANOVA de la hidrólisis enzimática de los sólidos

Tabla ANOVA para Celobiosa por Muestra

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0.00090867	3	0.00030289	15.76	0.0111
Intra grupos	0.00007689	4	0.0000192225		
Total	0.00098556	7			

Pruebas de Múltiple Rangos para Celobiosa por Muestra

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Muestra</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
MN	2	0.0705	X
T2	2	0.08035	X
T4	2	0.08155	X
T3	2	0.1	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
MN - T2		-0.00985	0.0178483
MN - T3	*	-0.0295	0.0178483
MN - T4		-0.01105	0.0178483
T2 - T3	*	-0.01965	0.0178483
T2 - T4		-0.0012	0.0178483
T3 - T4	*	0.01845	0.0178483

* indica una diferencia significativa.

Tabla ANOVA para Glucosa por Muestra

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1.36419	3	0.454732	118.26	0.0002
Intra grupos	0.0153805	4	0.00384513		
Total	1.37958	7			

Pruebas de Múltiple Rangos para Glucosa por Muestra

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Muestra</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
MN	2	0.54415	X
T3	2	1.42195	X
T2	2	1.4968	X
T4	2	1.55575	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
MN - T2	*	-0.95265	0.252434
MN - T3	*	-0.8778	0.252434
MN - T4	*	-1.0116	0.252434
T2 - T3		0.07485	0.252434
T2 - T4		-0.05895	0.252434
T3 - T4		-0.1338	0.252434

* indica una diferencia significativa.

Tabla ANOVA para Xilosa por Muestra

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0.00173588	3	0.000578628	11.58	0.0193
Intra grupos	0.000199815	4	0.0000499537		
Total	0.0019357	7			

Pruebas de Múltiple Rangos para Xilosa por Muestra

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Muestra</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
MN	2	0.0655	X
T2	2	0.07425	X
T4	2	0.08125	XX
T3	2	0.10515	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
MN - T2		-0.00875	0.0287724
MN - T3	*	-0.03965	0.0287724
MN - T4		-0.01575	0.0287724
T2 - T3	*	-0.0309	0.0287724
T2 - T4		-0.007	0.0287724
T3 - T4		0.0239	0.0287724

* indica una diferencia significativa.

Tabla ANOVA para Arabinosa por Muestra

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0.00487107	3	0.00162369	187.22	0.0001
Intra grupos	0.00003469	4	0.0000086725		
Total	0.00490576	7			

Pruebas de Múltiple Rangos para Arabinosa por Muestra

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Muestra</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T2	2	0.0	X
T4	2	0.0	X
T3	2	0.04305	X
MN	2	0.05435	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
MN - T2	*	0.05435	0.0119885
MN - T3		0.0113	0.0119885
MN - T4	*	0.05435	0.0119885
T2 - T3	*	-0.04305	0.0119885
T2 - T4		0.0	0.0119885
T3 - T4	*	0.04305	0.0119885

* indica una diferencia significativa.

Anexo 6. ANOVA del proceso de purificación de XOS por membranas

Análisis de Varianza para xilosa - Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamientos (T3 y T4)	0.533259	1	0.533259	2.47	0.1366
B: Proceso de UF, DF y NF	3.95952	8	0.494939	2.30	0.0786
RESIDUOS	3.23335	15	0.215557		
TOTAL (CORREGIDO)	7.5613	24			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Análisis de Varianza para xilobiosa - Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamientos (T3 y T4)	1.75209	1	1.75209	1.87	0.1932
B: Proceso de UF, DF y NF	9.29732	8	1.16216	1.24	0.3463
RESIDUOS	13.1257	14	0.937552		
TOTAL	24.8884	23			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Análisis de Varianza para xilotriosa - Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamientos (T3 y T4)	1.16925	1	1.16925	8.71	0.0132
B: Proceso de UF, DF y NF	0.787938	8	0.0984922	0.73	0.6625
RESIDUOS	1.47655	11	0.134232		
TOTAL	3.37993	20			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Pruebas de Múltiple Rangos para xilotriosa por Bloque

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Bloque</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
T3	14	0.0231164	0.101853	X
T4	7	0.552852	0.149351	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
T4 – T3	*	0.529736	0.395049

* indica una diferencia significativa.

Análisis de Varianza para xilotetraosa - Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamientos (T3 y T4)	0.00197623	1	0.00197623	0.11	0.7743
B: Proceso de UF, DF y NF	0.00932827	3	0.00310942	0.17	0.9091
RESIDUOS	0.0368231	2	0.0184116		
TOTAL	0.0537058	6			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual