



Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 1 (2): 262-271. Julio-Diciembre, 2010
http://www.rvcta.org
ISSN: 2218-4384 (versión en línea)
© Asociación RVCTA, 2010. RIF: J-29910863-4. Depósito Legal: ppi201002CA3536.

Nota Técnica

Modificación enzimática de la fibra dietaria del pergamino de café (*Coffea arabica* L.)

Enzymatic modification of dietary fiber on coffee hulls (*Coffea arabica* L.)

María Paulina **Torres Castro***, Galo Mauricio **Vargas Aguilar**

Universidad Técnica Particular de Loja, Centro de Transferencia de Tecnología e Investigación Agroindustrial (CETTIA). San Cayetano Alto, Calle Marcelino Champagnat, s/n, Loja, Ecuador.

*Autora para correspondencia: mptorres@utpl.edu.ec

Aceptado 17-Enero-2011

Resumen

En el presente trabajo se buscó modificar el balance Fibra Dietaria Insoluble/Fibra Dietaria Soluble (32,7:1) del pergamino de café mediante tratamiento enzimático. Se trabajó con tres enzimas: Cellulase, Hemicelulase y complejo enzimático Viscozyme® L con volúmenes: 200, 400, 600, 800 y 1000 μ L. El protocolo analítico para el tratamiento enzimático, fue una modificación de la metodología empleada por Mälkki y Myllymäki (1998). En las muestras tratadas enzimáticamente se determinó el contenido de fibra dietaria soluble e insoluble según el método enzimático-gravimétrico basado en la normativa AOAC 991,43 y AACC 32-07. Mediante el análisis estadístico se estableció el tratamiento óptimo en 800 μ L del complejo de enzimas Viscozyme® L con un costo de ensayo de 1,59 US\$/g de fibra y 94,40 % de rendimiento, obteniéndose un balance Fibra Dietaria Insoluble/Fibra Dietaria Soluble de 2,39:1.

Palabras claves: pergamino de café, modificación enzimática, FDI/FDS.

Abstract

In this work was found how to modify the Insoluble Dietary Fiber/Soluble Dietary Fiber balance (32,7:1) in coffee hulls through enzymatic treatment. Three enzymes were used:

Cellulase, Hemicellulase and enzymatic complex Viscozyme® L using the following volumes: 200, 400, 600, 800 and 1000 µL. The analytical protocol for the enzymatic treatment was a modification of the techniques used by Mälkki and Myllymäki (1998). In the enzymatic treated samples the amount of insoluble and soluble dietary fiber was determined according to the enzymatic-gravimetric methods based in AOAC 991.43 and AACC 32-07 techniques. Through statistical analysis the optimum treatment was established in 800 µL from the enzymatic complex Viscozyme® L with a cost of treatment of 1.59 US\$/g of fiber and 94.40 % of yield, obtaining a Insoluble Dietary Fiber/Soluble Dietary Fiber balance in the order of 2.39:1.

Key words: coffee hulls, enzymatic modification, IDF/SDF.

INTRODUCCIÓN

La fibra dietaria desde el punto de vista biológico se clasifica en soluble e insoluble; en función de su dispersión en el agua. Cada fracción presenta diferentes propiedades físicoquímicas que dependen de su estructura química (Grigelmo-Miguel *et al.*, 1999; Redondo-Márquez, 2002; Guzmán, 2006).

Los recursos más usados como fuente de fibra dietaria en tecnología de alimentos son los cereales (Perez-Hidalgo *et al.*, 1997; Grigelmo-Miguel *et al.*, 1999; Gartzia *et al.*, 2008). Las fibras procedentes de legumbres y de frutas aunque menos estudiadas son consideradas en general como de mejor calidad nutricional y tecnológica. Actualmente existe la tendencia en estudiar materias primas no utilizadas en la alimentación tipo residuos y/o subproductos agroalimentarios como nuevas fuentes para la obtención de fibra dietaria (Perez-Hidalgo *et al.*, 1997; Sáenz *et al.*, 2007; Gartzia *et al.*, 2008).

El beneficiado de las cerezas del café (*Coffea arabica* L.) da origen a dos subproductos recuperables, la pulpa y el pergamino (Bressani *et al.*, 1971). El pergamino de café o cascarilla es la parte anatómica que envuelve el grano, y constituye alrededor del 12 % del peso del grano en base seca (Rodríguez-Valencia, 1999) y entre el 20 y 25 % del peso del grano seco despulpado

(Bressani *et al.*, 1971). Posee un balance Fibra Dietaria Insoluble/Fibra Dietaria Soluble (FDI/FDS) de $\approx 32:1$, constituyendo una buena fuente de fibra dietaria insoluble (Abarca *et al.*, 2010). El balance entre las fracciones de un recurso de fibra es muy importante ya que de este dependen los efectos nutricionales y funcionales en el organismo (Figuerola *et al.*, 2005; Guzmán, 2006). Por lo tanto, no solo se debe considerar la cantidad sino también el tipo de fibra que se consume (Femenia *et al.*, 1997; Guzmán, 2006). En términos de beneficios para la salud, la ingesta diaria debería proveer una relación de FDI/FDS igual a 3:1 (Redondo-Márquez, 2002; Guzmán, 2006). El balance entre las fracciones de fibra de un recurso puede calificarse como bueno cuando es de 2,3:1 o excelente cuando éste es 1:1 (Grigelmo-Miguel *et al.*, 1999; Sánchez-Guzmán, 2005).

La aplicación de enzimas en condiciones específicas de tiempo, temperatura y pH, en función de la naturaleza de la fibra y enzima, produce la degradación y remoción de compuestos digeribles como: proteínas, almidones y azúcares simples, cambiando así el contenido, composición (Dreher, 2001) y propiedades funcionales de la fibra dietaria (Meyer *et al.*, 2009). También se producen cambios en el contenido de grasa (liberación de ésteres de los enlaces solubilizados), extracto libre de nitrógeno y fibra cruda (depósito de azúcares

simples) (Johnson y Southgate, 1994; Mälkki y Myllymäki, 1998; Guzmán, 2006). Aplicando éste principio, Oh y Grundleger (1990), consiguieron incrementar el contenido de la fracción soluble de la fibra de trigo de 15,8 a 30,1 %.

El objetivo de este trabajo fue producir la degradación parcial de los componentes celulosa y hemicelulosa de la fibra dietaria insoluble en el pergamino de café, modificando así su balance FDI/FDS.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia Prima

Como materia prima se usó el pergamino resultante del beneficio húmedo del café procedente de la región de Zumba, Provincia de Zamora Chinchipe, Ecuador; situada a 1500 msnm.

Muestreo

El muestreo se realizó en el centro de acopio de la Federación Regional de Asociaciones de Pequeños Cafetaleros Ecológicos del Sur (FAPECAFES), en Loja, Ecuador; siguiendo la Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense NTON 17002-02 (CTPPN, 2003) tomándose tres muestras de 5 kg cada una, provenientes de un lote de producción superior a 500 kg.

Enzimas utilizadas

Se utilizaron tres enzimas: Cellulase (actividad ≥ 3 U/mg), Hemicelulase (actividad 0,3-3,0 U/mg), ambas derivadas de *Aspergillus niger* y comercializadas por Sigma-Aldrich (Estados Unidos); y Viscozyme® L, un complejo multienzimático que contiene carbohidrasas que incluyen arabinasa, celulasa, β -glucanasa, hemicelulasa y xilanasas; de actividad β -glucanasa expresada como 100 FBG/g (Fungal Beta Glucanase), de

la casa comercial Novozymes A/S, Dinamarca (1 FBG es la cantidad de enzimas las cuales bajo condiciones estándar liberan glucosa con un poder de reducción correspondiente a 1 μ mol de glucosa por minuto).

Se determinó la actividad enzimática de cada enzima frente al sustrato estándar carboximetilcelulosa (CMC), mediante la estimación de azúcares reductores por el método del ácido dinitrosalicílico (DNS) (Ghose, 1987). La actividad enzimática de las enzimas comerciales expresada en unidades internacionales de actividad enzimática (U) por mililitro de solución fue de 1503, 621 y 943 U/mL para Celulasa, Hemicelulasa y Viscozyme® L, respectivamente.

Métodos analíticos

A una muestra representativa tomada luego de mezclar todas las muestras de residuos deshidratados provenientes del lote de producción, se les determinó mediante normativa AOAC (1990; 2005), los contenidos de humedad (AOAC 934.06), proteína (AOAC 920.152), grasa (AOAC 954.02) y cenizas (AOAC 942.05).

Fibra dietaria total, soluble e insoluble

Los contenidos de fibra dietaria total (FDT), soluble e insoluble se determinaron mediante normativa de la AOAC (1995) – AACC (1995) en sus métodos 991.43 y 32-07, respectivamente.

La fibra fue medida por triplicado en muestras previamente deshidratadas y con contenido de grasa menor a 10 %. Para fibra dietaria total, las muestras se sometieron a digestión (98 °C) con α -amilasa en baño maría marca Memmert (modelo WB22), para producir la gelatinización, hidrólisis y despolimerización del almidón. En el baño maría antes mencionado, también se incubaron las muestras con proteasa y amiloglucosidasa a 60 °C para

producir la solubilización y despolimerización de las proteínas y para hidrolizar los fragmentos de almidón a glucosa. Posteriormente, las muestras fueron tratadas con 4 volúmenes de etanol para facilitar la precipitación de la fibra dietaria soluble y la remoción de la proteína y glucosa despolimerizada proveniente del almidón. Usando un embudo de porcelana y una bomba de vacío marca GAST (modelo DOA-P104-AA), el residuo fue filtrado (papel filtro) y lavado con etanol (78 y 95 %) y acetona. La muestra se secó en estufa (marca Memmert, modelo SNB400) a 103 °C y luego se pesó en balanza analítica (marca Ohaus, modelo AP2500).

Para la determinación de la FDI, luego de la acción enzimática (α -amilasa, proteasa y amiloglucosidasa), se filtró la solución; el residuo fue lavado con 2 alícuotas de 10 mL de agua caliente, etanol (95 %) y acetona. El residuo se secó en estufa (103 °C) durante toda la noche y se enfrió.

En el procedimiento para la determinación de FDS, la solución que con-

tiene una mezcla de las enzimas empleadas para los procesos anteriormente descritos, fue filtrada; al líquido resultante de la filtración se le agregó etanol al 95 % a temperatura de 60 °C, para ayudar a la precipitación de la fibra dietaria soluble, esta solución se filtró y lavó con etanol (78 y 95 %) y acetona. Finalmente el residuo se secó, enfrió y pesó.

En los tres procedimientos anteriores un triplicado se analizó para proteína y el otro fue incinerado a 525 °C en una mufla marca Thermolyne (modelo F48015) para la determinación de cenizas. El valor numérico de la fibra dietaria (total, soluble e insoluble), correspondió al resultado de la diferencia entre el peso del residuo filtrado seco y los porcentajes de la proteína y cenizas determinados independientemente aplicando las técnicas habituales.

El cálculo para determinar el contenido de fibra dietaria total, soluble e insoluble se realizó aplicando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Fibra Dietaria} = \frac{\text{Peso del residuo} - \text{Proteína} - \text{Cenizas} - \text{Blanco}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

Tratamiento Enzimático

Se siguió una modificación del protocolo de Mälkki y Myllymäki (1998) (Fig. 1). Los tratamientos enzimáticos consistieron en aplicar al pergamino de café seco (< 10 % de humedad) y molido (200–500 μm) un volumen de enzima, de manera independiente, sin mezcla enzimática, bajo condiciones establecidas de pH, temperatura (T) y tiempo (t) de acuerdo a las recomendaciones técnicas para cada enzima, las cuales respectivamente fueron las siguientes: Cellulase (4,5; 37 °C; 2h), Hemicellulase (4,5; 40 °C; 2h) y Viscozyme® L (5,0; 45 °C; 4h) (Sigma-Aldrich, 2007; Foulk *et al.*, 2008). Se

utilizaron reactivos de grado alimenticio.

Análisis estadísticos

Se utilizó un diseño factorial 3x5x3. Como variable respuesta se evaluó el balance FDI/FDS que se obtuvo de cada tratamiento. Los factores de estudio fueron: tipo de enzima (Cellulase, Hemicellulase y Viscozyme® L) y volumen de enzima (200, 400, 600, 800 y 1000 μL) (Dreher, 2001; Mejía-Giraldo *et al.*, 2007), con tres repeticiones cada ensayo. El análisis de resultados se llevó a cabo usando el paquete estadístico Minitab® Statistical Software, versión 15 (Minitab Inc., State College, PA, USA).



Figura 1.- Protocolo seguido para los tratamientos enzimáticos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición química del pergamino de café

En el Cuadro 1 se presenta la composición química del pergamino de café. El

contenido de humedad fue mayor al valor publicado por Bressani *et al.* (1972) de 7,60 % y menor a los de Souza *et al.* (2005) de 13,9 % y Faria *et al.* (2010) de 18,8 %. El valor de proteína obtenido fue ligeramente inferior a los contenidos en base seca indicados por Souza *et*

Cuadro 1.- Composición química del pergamino de café (g/100 g en base seca).

Humedad	Proteína	Grasa	Cenizas	FDT	FDI	FDS	FDI/FDS
9,53	7,82	0,10	22,70	24,95	24,21	0,74	32,7:1

al. (2005) y Faria *et al.* (2010) de 8,40 y 8,16 %, respectivamente. En relación al porcentaje de grasa, este fue claramente inferior a los valores de 0,6; 0,97 y 1,0 % señalados por Bressani *et al.* (1972), Faria *et al.* (2010) y Souza *et al.* (2005), respectivamente. Solo el contenido de cenizas fue superior a los valores presentados por Bressani *et al.* (1972) de 0,5 % y Faria *et al.* (2010) de 5,78 %.

En relación al contenido de FDT este fue de 24,95 % y presentó una relación FDI/FDS de 32,7:1. El pergamino de café tiene alto contenido de hexosas, pentosas y lignina (Murillo *et al.*, 1977).

Los datos obtenidos indican que el pergamino de café es fuente potencial de proteína y carbohidratos y por ser un subproducto recuperable del beneficiado del café, reviste interés un mayor aprovechamiento.

Balance FDI/FDS

Las tres enzimas (Cellulase, Hemicellulase y complejo enzimático Viscozyme® L) lograron modificar el balance FDI/FDS del pergamino de café (Fig. 2).

El mejor resultado se obtuvo con un volumen de enzima de 800 µL del complejo Viscozyme® L, lográndose una disminución del balance de 32,7:1 a 2,39:1 (Cuadro 2) con un rendimiento de recuperación de 94,40 % (Cuadro 3). Oh y Grundleger (1990) en fibra de trigo publicaron disminución del balance FDI/FDS de 5:1 a 2:1. La actividad específica de las diferentes enzimas fibrolíticas sobre los componentes de la fracción insoluble de la fibra dietaria (celulosa y algunas

hemicelulosas) del pergamino de café, fue la razón de la diferencia entre los tratamientos.

El desempeño del complejo multienzimático Viscozyme® L (Fig. 2), en comparación con las otras dos preparaciones comerciales utilizadas en el estudio (Cellulase y Hemicellulase), resultó ser más efectivo por tratarse de una mezcla con mayor diversidad de enzimas (arabinasa, celulasa, β-glucanasa, hemicelulasa y xilanas) que hace que la ruptura de enlaces durante la hidrólisis sea mayor (β-1-4-D-glucosídicos, cadenas laterales de arabinosa α-1-5 y 1-4 β-D-xilanos, entre otros), degradando así mas componentes (Dunhill, 1978; Kornberg, 1992). Es conocido que Viscozyme® causa la ruptura de las paredes celulares favoreciendo la extracción de compuestos útiles de los tejidos vegetales, aumentando su digestibilidad y absorción (Dueñas *et al.*, 2007); asimismo ha sido observado que incrementa el contenido de fibra soluble, mejorando la relación fibra insoluble/fibra soluble (Antezana *et al.*, 2003).

Los tratamientos con el complejo enzimático Viscozyme® L a volúmenes de 800 y 1000 µL no presentaron diferencia, entre ellos (2,39:1 y 2,39:1, respectivamente) (Cuadro 2) y fueron valores similares al criterio de 2,3:1 que se emplea para calificar un recurso de fibra como bueno para ser usado como ingrediente en alimentos procesados (Grigelmo-Miguel *et al.*, 1999; Guzmán, 2006) y en términos de beneficios para la salud, valores cercanos a la relación FDI/FDS de 3:1 requerida como ingesta diaria.

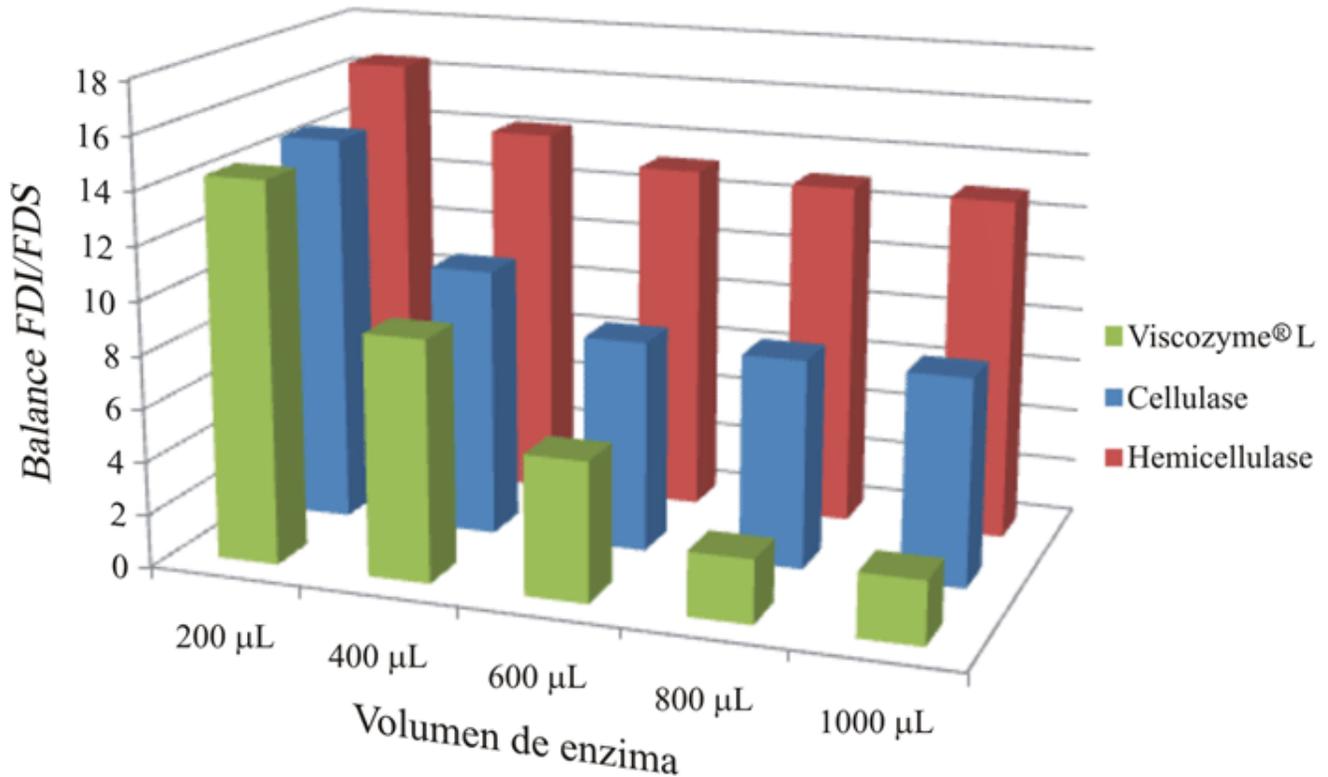


Figura 2.- Modificación del balance FDI/FDS del pergamino de café.

Cuadro 2.- Balances FDI/FDS obtenidos luego de cada tratamiento enzimático.*

Enzimas	Tratamientos									
	200 µL		400 µL		600 µL		800 µL		1000 µL	
	FDI/FDS		FDI/FDS		FDI/FDS		FDI/FDS		FDI/FDS	
	FDI	FDS	FDI	FDS	FDI	FDS	FDI	FDS	FDI	FDS
Cellulase	14,67:1 ± 0,04		10,12:1 ± 0,05		7,97:1 ± 0,06		7,87:1 ± 0,02		7,81:1 ± 0,01	
	20,524	1,399	19,105	1,888	18,142	2,277	18,151	2,306	18,090	2,316
Hemicellulase	16,53:1 ± 0,08		14,17:1 ± 0,07		13,17:1 ± 0,07		12,94:1 ± 0,06		12,88:1 ± 0,06	
	20,641	1,249	20,422	1,441	20,332	1,544	20,292	1,568	20,332	1,579
Viscozyme® L	14,35:1 ± 0,11		9,08:1 ± 0,07		5,25:1 ± 0,05		2,39:1 ± 0,07		2,39:1 ± 0,01	
	19,735	1,375	19,497	2,148	18,185	3,463	15,473	6,484	15,436	6,473

* Los valores presentados son el promedio de 3 repeticiones mas ó menos la desviación estándar.

Cuadro 3.- Rendimientos y costos de cada tratamiento enzimático.

Enzimas	Tratamientos									
	200 μ L		400 μ L		600 μ L		800 μ L		1000 μ L	
	%	\$	%	\$	%	\$	%	\$	%	\$
Cellulase	93,72	1,51	94,46	1,57	92,12	1,63	92,85	1,68	92,80	1,74
Hemicellulase	93,07	1,44	94,01	1,47	93,99	1,50	93,63	1,53	93,86	1,57
Viscozyme® L	93,77	1,42	93,08	1,48	94,18	1,53	94,40	1,59	94,17	1,65

%; rendimiento de recuperación de muestras luego del tratamiento enzimático.

\$: costo por gramo de fibra modificada (en US\$).

Al no existir gran diferencia entre los tratamientos con 800 y 1000 μ L del complejo enzimático Viscozyme® L, se consideró como tratamiento óptimo el de 800 μ L, con el cual se obtuvo un balance FDI/FDS de 2,39:1; 94,40 % de rendimiento y mediante el análisis de costos (Cuadro 3) un monto a nivel de laboratorio de US\$ 1,59 por gramo de fibra modificada.

CONCLUSIONES

- El pergamino de café presentó contenidos de humedad 9,53 %; proteína 7,82 %; grasa 0,10 %; cenizas 22,70 %; FDT 24,95 %; FDI 24,21 % y FDS 0,74 %.
- Las tres enzimas usadas en el presente estudio modificaron el balance FDI/FDS del pergamino de café y el tratamiento óptimo fue el realizado con 800 μ L del complejo enzimático Viscozyme® L con el cual se obtuvo un balance de 2,39:1; 94, 40 % de rendimiento y un costo de análisis por gramos de fibra modificada de US\$ 1,59.

RECOMENDACIONES

Para comprobar el beneficio del balance

FDI/FDS obtenido en el pergamino de café, se recomienda realizar estudios posteriores como: fermentación *in vitro*, fraccionamiento de la parte insoluble de la fibra dietaria y determinar algunas propiedades funcionales de fibra dietaria, entre otros.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Federación Regional de Asociaciones de Pequeños Cafetaleros Ecológicos del Sur (FAPECAFES) por su apoyo para la obtención de las muestras del presente trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AACC. 1995. American Association of Cereal Chemists. Approved Methods. (9na. ed.). Determination of soluble, insoluble and total dietary fiber in foods and food products. Method 32-07. Saint Paul, MN, USA.
- Abarca, Diego; Martínez, Ruth; Muñoz, Juan José; Torres, María Paulina y Vargas, Galo. 2010. Residuos de café, cacao y cladodio de tuna: fuentes promisorias de fibra. En III Congreso Ecuatoriano de Ingeniería de Alimentos. II Jornadas de Ciencia y Tecnología en Alimentos. (24-26 Noviembre). Guayaquil, Ecuador.

- Antezana, J.R.; Esteban, R.M.; Jaime, L.; Martín-Cabrejas, M.A.; Gago, L.; de la Cruz, M.; López-Andreu, F.J. y Mollá, E. 2003. Efecto de la adición de enzimas sobre la fibra alimentaria de *Pisium sativum* L. En 2º Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. (pp. 253-255). Orihuela, Murcia, España.
- AOAC. 1990. Association of Official Analytical Chemist. Official Methods of Analysis. (15ta. ed.). Washington, USA.
- AOAC. 1995. Association of Official Analytical Chemist. Official Methods of Analysis. (16ta. ed.). Total, insoluble and soluble dietary fiber in food. Enzymatic-gravimetric method, MES-TRIS Buffer. Method 991.43. Gaithersburg, MD, USA.
- AOAC. 2005. Association of Official Analytical Chemist. Official Methods of Analysis. (18va. ed.). Washington, USA.
- Bressani, R.; Estrada, E. y Jarquin, R. 1972. Pulpa y pergamino de café. I. Composición química y contenido de aminoácidos de la proteína de la pulpa. Turrialba. 22(3):299-304.
- Bressani, R.; Jarquin, R.; Estrada, V.E. y Gómez, B.R. 1971. Composición química de la pulpa de café. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal. 6:113-114.
- CTPPN. 2003. Comité Técnico de Preparación y Presentación de Normas. Norma de procedimientos para muestreo de productos vegetales. Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense NTON 17002-02.
- Dreher, Mark L. 2001. Dietary fiber overview. In Handbook of dietary fiber. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Dueñas, M.; Hernández, T. and Estrella, I. 2007. Changes in the content of bioactive polyphenolic compounds of lentils by the action of exogenous enzymes. Effect on their antioxidant activity. Food Chemistry. 101(1):90-97.
- Dunhill, P. 1978. Topics in enzyme and fermentation biotechnology. Volume 2. New York: John Wiley and Sons.
- Faria, Dawson José Guimarães; Garcia, Rasmó; Tonucci, Rafael Gonçalves; Tavares, Valdir Botega; Pereira, Odilon Gomes e Fonseca, Dilermando Miranda da. 2010. Produção e composição do efluente da silagem de capim-elefante com casca de café. Revista Brasileira de Zootecnia. 39(3):471-478.
- Femenia, A.; Lefebvre, A.-C.; Thebaudin, J.-Y.; Robertson, J.A. and Bourgeois, C.-M. 1997. Physical and sensory properties of model foods supplemented with cauliflower fiber. Journal of Food Science. 62(4):635-639.
- Figueroa, Fernando; Hurtado, Maria Luz; Estévez, Ana María; Chiffelle, Italo and Asenjo, Fernando. 2005. Fibre concentrates from apple pomace and citrus peel as potential fibre sources for food enrichment. Food Chemistry. 91(3):395-401.
- Foulk, Jonn A.; Akin, Danny E. and Dodd, Roy B. 2008. Influence of pectinolytic enzymes on retting effectiveness and resultant fiber properties. BioResources. 3(1):155-169.
- Gartzia, Irene; Sánchez-Alonso, Isabel; Ricondo, Ziortza y Ayo, Josune. 2008. Agrofibra: desarrollo de ingredientes alimentarios a base de fibra dietética procedentes de residuos agroalimentarios. Informe Annual 2007. Convenio AZTI/DAPA (Azti-Tecnalia/Departamento de Agricultura, Pesca y Alimentación). Sukarrieta, España. 16 p.
- Ghose, T.K. 1987. Measurement of cellulase activities. Pure and Applied Chemistry. 59(2):257-268.
- Grigelmo-Miguel, Nuria; Gorinstein, Shela and Martín-Belloso, Olga. 1999. Characterisation of peach dietary fibre concentrate as a food ingredient. Food Chemistry 65(2):175-181.
- Guzmán, Ernesto. 2006. Fibra dietética / Solo

- beneficios para nuestro organismo. *Nutrición* 21. 15:34. <http://www.inta.cl/revista/NutriXXI-15.pdf>
- Johnson, I.T. and Southgate, D.A.T. 1994. Dietary fibre and related substances. London, United Kingdom: Chapman & Hall.
- Kornberg, Arthur. 1992. Pasión por las enzimas. Madrid: Ediciones Pirámide.
- Mälkki, Yrjö and Myllymäki, Olavi. 1998. Method for enriching soluble dietary fibre. United States Patents. Patent Number: 5,846,590. <http://www.freepatentsonline.com/5846590.html>
- Mejía-Giraldo, L.F.; Martínez-Correa, H.A.; Betancourt-Gutiérrez, J.E. y Castriñón-Castaño, C.E. 2007. Aprovechamiento del residuo agroindustrial del mango común (*Mangifera indica* L.) en la obtención de azúcares fermentables. *Ingeniería y Ciencia*. 3(6):41-62.
- Meyer, Anne S.; Dam, Birgitte, P. and Laerke, Helle N. 2009. Enzymatic solubilization of a pectinaceous dietary fiber fraction from potato pulp: optimization of the fiber extraction process. *Biochemical Engineering Journal*. 43(1):106-112.
- Murillo, Beatriz; Cabezas, Marco Tulio; Jarquin, Roberto and Bressani, Ricardo. 1977. Effect of bisulfite addition on the chemical composition and cellular content fractions of dehydrated coffee pulp. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 25(5):1090-1092.
- Oh, Young Nam and Grundleger, Melvin L. 1990. Improvement in soluble fiber content of wheat fiber through enzymatic modification. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 38(4):1142-1145.
- Pérez-Hidalgo, M.; Guerra-Hernández, E. and García-Villanova, B. 1997. Determination of insoluble dietary fiber compounds: cellulose, hemicellulose and lignin in legumes. *Ars Pharmaceutica*. 38(4):357-364.
- Redondo-Márquez, Luis. 2002. La fibra terapéutica. (2da. ed.). Barcelona: Editorial Glosa.
- Rodríguez-Valencia, Nelson. 1999. Manejo de residuos en la industria cafetera. En Seminario Internacional Gestión Integral de Residuos Sólidos y Peligrosos. Siglo XXI. 09-11 Noviembre. Medellín, Colombia.
- Sigma-Aldrich. 2007. Complex carbohydrate analysis: enzymes, kits and reagents. 2(3): 32 p.
- Sáenz, Carmen; Estévez, Ana María y Sanhueza, Sergio. 2007. Utilización de residuos de la agroindustria de jugos de naranja como fuente de fibra dietética en la elaboración de alimentos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 57(2):186-191.
- Sánchez-Guzmán, Balbina Senorina. 2005. Caracterización fisicoquímica y funcional de la fibra dietética del fruto del níspero (*Eriobotrya japonica*) y de la cáscara de mango obo (*Mangifera indica* L.). Tesis. Instituto de Agroindustrias, Universidad Tecnológica de la Mixteca, Huajuapán de León, Oaxaca, México. http://jupiter.utm.mx/~tesis_dig/9637.pdf
- Souza, Alexandre Lima de; Garcia, Rasmio; Valadares-Filho, Sebastião de Campos; Rocha, Fernanda Cipriano; Campos, José Maurício de Souza; Cabral, Luciano da Silva e Gobbi, Kátia Fernanda. 2005. Casca de café em dietas de vacas em lactação: consumo, digestibilidade e produção de leite. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 34(6):2496-2504(supl.).