



**UTMACH**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD**

**CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**Análisis fitoquímico comparativo de tres variedades de Coffea arabica.**

**ZAMBRANO ZAMBRANO WILSON ALEXANDER  
BIOQUIMICA FARMACEUTICA**

**MOROCHO CRUZ GENESIS KATIUSCA  
BIOQUIMICA FARMACEUTICA**

**MACHALA  
2024**



**UTMACH**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD**

**CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**Análisis fitoquímico comparativo de tres variedades de Coffea arabica.**

**ZAMBRANO ZAMBRANO WILSON ALEXANDER  
BIOQUIMICA FARMACEUTICA**

**MOROCHO CRUZ GENESIS KATIUSCA  
BIOQUIMICA FARMACEUTICA**

**MACHALA  
2024**



**UTMACH**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD**

**CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**TRABAJOS EXPERIMENTALES**

**Análisis fitoquímico comparativo de tres variedades de Coffea arabica.**

**ZAMBRANO ZAMBRANO WILSON ALEXANDER  
BIOQUIMICA FARMACEUTICA**

**MOROCHO CRUZ GENESIS KATIUSCA  
BIOQUIMICA FARMACEUTICA**

**CAMPO FERNANDEZ MERCEDES**

**MACHALA  
2024**

# Análisis fitoquímico comparativo de tres variedades de Coffea arabica.

*por* Génesis Katusca Morocho Cruz

---

**Fecha de entrega:** 01-ago-2024 09:34a.m. (UTC-0500)

**Identificador de la entrega:** 2425819851

**Nombre del archivo:** G\_nesis\_y\_Wilson.docx (2.98M)

**Total de palabras:** 14667

**Total de caracteres:** 77406

# Análisis fitoquímico comparativo de tres variedades de Coffea arabica.

## INFORME DE ORIGINALIDAD

2%

INDICE DE SIMILITUD

2%

FUENTES DE INTERNET

0%

PUBLICACIONES

0%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1

[es.scribd.com](https://es.scribd.com)

Fuente de Internet

1%

2

[ojs.unemi.edu.ec](https://ojs.unemi.edu.ec)

Fuente de Internet

1%

Excluir citas

Activo

Excluir bibliografía

Activo

Excluir coincidencias < 1%

## CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

Los que suscriben, ZAMBRANO ZAMBRANO WILSON ALEXANDER y MOROCHO CRUZ GENESIS KATIUSCA, en calidad de autores del siguiente trabajo escrito titulado Análisis fitoquímico comparativo de tres variedades de Coffea arabica., otorgan a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tienen potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

Los autores declaran que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

Los autores como garantes de la autoría de la obra y en relación a la misma, declaran que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asumen la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.



ZAMBRANO ZAMBRANO WILSON ALEXANDER

0751122524



MOROCHO CRUZ GENESIS KATIUSCA

0705662674

## DEDICATORIA

Dedico el presente trabajo de investigación, que hemos logrado desarrollar con mucho esfuerzo, a mi querido hermano menor, así como a mis primos y primas que están estudiando. Espero que encuentren en estas páginas una fuente de inspiración para sus estudios, que les demuestre que el esfuerzo, sacrificio y dedicación, así como el trabajo en equipo son pilares fundamentales para el éxito y realización personal. ¡Nunca pierdan su curiosidad!

A mi mamá, para que tenga en cuenta que el tiempo y las responsabilidades en familia no son un impedimento para retomar los sueños dejados en el pasado.

Con la esperanza de que este trabajo ilumine su camino y los impulse a alcanzar sus inspiraciones y logros personales.

*Génesis Katusca Morocho Cruz.*

Dedico este trabajo a mi querido papá, cuya guía, apoyo incondicional y amor han sido la base sobre la cual he construido mis sueños. A mis queridas mascotas, que con su compañía y cariño constante han aligerado mis días de estudio, proporcionando consuelo en momentos de estrés.

*Wilson Alexander Zambrano Zambrano.*

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco con mucho cariño a mis padres, por brindarme los medios que estuvieron dentro de sus posibilidades y me permitieron iniciar y culminar mis estudios. Estuvieron presentes y mostraron su preocupación por mi preparación y bienestar desde temprana edad.

Agradezco infinitamente a mi tutora, gracias por ser una guía en este proceso de titulación e investigación. Por su apoyo y orientación en cada paso, le tengo un gran aprecio, consideración y respeto.

A Wilson, por acompañarme como mi pareja desde que inicié la carrera, ha sido un gran apoyo durante mi formación. Al igual que mis pequeñas mascotas, son mi fuente de paz y estabilidad emocional para los problemas que surgen día a día.

Finalmente, a todos los maestros que también se han convertido en amigos, gracias por sus consejos, disponibilidad y por inculcarme ese amor por la investigación y la ciencia, han dejado una marca para recordarlos siempre con mucho aprecio.

Sin todos ustedes este logro no habría sido posible. ¡Muchas gracias!

*Génesis Katiusca Morocho Cruz.*

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mi tutora, especialistas y profesores, quienes con su sabiduría, paciencia y dedicación han contribuido de manera invaluable a mi formación académica y personal. Gracias por ser faros de conocimiento y por guiarme en cada paso de este arduo pero gratificante camino. Su compromiso y apoyo han sido esenciales para la realización de este trabajo de titulación. A todos ustedes, mi eterna gratitud.

*Wilson Alexander Zambrano Zambrano.*



## RESUMEN

La cascarilla de café es un residuo agroindustrial del procesamiento del café que, según estudios referidos por otros autores, pudiera ser una materia prima de interés comercial. Estudios evidencian que posee capacidad antioxidante lo que tributa en beneficio a la salud humana. Es por ello que, la presente investigación se propuso como objetivo evaluar la composición química y actividad biológica de la cascarilla de tres variedades de *C. arabica*: Acawa (A), Sarchimor (S) y Bourbon sidra (B), utilizando métodos cromatográficos y espectroscópicos, para sustentar su posible aprovechamiento en la industria farmacéutica y alimentaria.

Se realizó el análisis bromatológico de las cascarillas de café mediante determinaciones que evidenciaron el valor nutricional y calidad de la materia vegetal destacando la variedad B por su mayor contenido de proteínas y fibra total, sin embargo, las demás variedades también demostraron buena calidad.

El análisis cromatográfico en capa delgada (CCD) permitió constatar que las variedades A y S poseen perfiles cromatográficos similares en cuanto a la presencia de compuestos químicos con grupos cromóforos conjugados, metabolitos fenólicos y capacidad antioxidante. Para las tres materias primas se evidenció, además, la existencia de aminoácidos y cafeína con apariencia cromatográfica planar muy similar.

El estudio cromatográfico en columna acoplado con espectrometría de masas CLAE/EM permitió la identificación de los principales metabolitos especializados, sugiriendo la presencia de una variedad de compuestos destacando la cafeína y otros de naturaleza fenólica como derivados de cafeoilquinico. Cabe resaltar que en la variedad S se identificó la mayor diversidad de componentes químicos por ambos métodos. Dichos resultados guardan relación con la cuantificación de compuestos fenólicos y de taninos por el método de Folin-Ciocalteu y la precipitación con gelatina, donde se constató que las variedades A y S presentaron los mayores valores de fenoles totales y de taninos. Los niveles de cafeína, también cuantificados espectrofotométricamente con ayuda de una curva de calibración, fueron también mayores en dichas variedades. Se cuantificó la capacidad antioxidante mediante el método del 2-difenil-1-picilhidrazilo (DPPH) y midiendo el poder antioxidante reductor del ion férrico (FRAP), en ambos casos se refieren los resultados como equivalente al patrón trolox. Aunque las tres materias primas poseen capacidad antioxidante por ambos mecanismos de acción, las variedades antes señaladas destacan como las más efectivas, resultados que

correlacionan de manera positiva fuerte con el nivel de compuestos fenólicos determinado.

El ensayo *in vivo* para identificar la capacidad hipoglucemiante de la cascarilla de café variedad S resultó prometedor, aunque el efecto difirió significativamente de la glibenclamida, la administración vía oral de las cascarillas logró reducir los niveles de glucosa basal frente al control negativo. Este ensayo se define como preliminar, tomando en consideración que deben corregirse algunos detalles respecto a la administración de la cascarilla, además de la necesidad de evaluar el efecto dosis respuesta utilizando más de un grupo de tratamiento con cascarilla.

Finalmente se concluyó que las cascarillas de café analizadas pueden ser consideradas como materias primas de interés en la industria farmacéutica o alimentaria, aprovechando el efecto sinérgico que brinda su capacidad antioxidante e hipoglicemiante.

Palabras clave: Cascarilla de café, antioxidante, hipoglicemiante, compuestos fenólicos, cafeína.

## ABSTRACT

Coffee husk is an agro-industrial residue from coffee processing that, according to studies referred to by other authors, could be a raw material of commercial interest. Studies show that it has antioxidant capacity, which benefits human health. Therefore, this research aimed to evaluate the chemical composition and biological activity of the husk from three varieties of *C. arabica*: Acawa (A), Sarchimor (S), and Bourbon Sidra (B), using chromatographic and spectroscopic methods, to support its potential use in the pharmaceutical and food industries.

A bromatological analysis of the coffee husks was conducted through determinations that evidenced the nutritional value and quality of the plant material, highlighting variety B for its higher protein and total fiber content. However, the other varieties also demonstrated good quality.

Thin-layer chromatography (TLC) analysis showed that varieties A and S have similar chromatographic profiles regarding the presence of chemical compounds with conjugated chromophore groups, phenolic metabolites, and antioxidant capacity. Additionally, the existence of amino acids and caffeine with very similar planar chromatographic appearance was evidenced for the three raw materials.

Column chromatography coupled with mass spectrometry (HPLC/MS) allowed the identification of the main specialized metabolites, suggesting the presence of a variety of compounds, highlighting caffeine and other phenolic nature compounds such as caffeoylquinic derivatives. It is noteworthy that the S variety exhibited the greatest diversity of chemical components by both methods. These results are related to the quantification of phenolic compounds and tannins by the Folin-Ciocalteu method and precipitation with gelatin, where varieties A and S showed the highest values of total phenols and tannins. Caffeine levels, also quantified spectrophotometrically with the help of a calibration curve, were also higher in these varieties.

The antioxidant capacity was quantified using the 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method and by measuring the ferric reducing antioxidant power (FRAP), with the results referred to as equivalent to the Trolox standard. Although all three raw materials have antioxidant capacity by both mechanisms of action, the previously mentioned varieties

stand out as the most effective, results that strongly correlate positively with the level of determined phenolic compounds.

The in vivo assay to identify the hypoglycemic capacity of the S variety coffee husk was promising. Although the effect significantly differed from glibenclamide, the oral administration of the husks managed to reduce basal glucose levels compared to the negative control. This assay is considered preliminary, taking into account that some details regarding the administration of the husk need to be corrected, in addition to the need to evaluate the dose-response effect using more than one treatment group with husk.

Finally, it was concluded that the analyzed coffee husks can be considered as raw materials of interest in the pharmaceutical or food industry, taking advantage of the synergistic effect provided by their antioxidant and hypoglycemic capacity.

Keywords: Coffee husk, antioxidant, hypoglycemic, phenolic compounds, caffeine.

## CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN.....	13
Objetivo general.....	14
MARCO TEÓRICO .....	15
1.1 Fitología del café .....	15
1.1.1 Morfología.....	15
1.1.2 Fenotipificación de variedades.....	16
1.2 Procesamiento del café .....	16
1.3 Cascarilla de café .....	17
1.3.1 Generalidades .....	17
1.3.2 Análisis proximal.....	18
1.3.3 Metabolitos especializados .....	19
1.4 Actividad biológica .....	21
1.4.1 Actividad antioxidante.....	21
1.4.2 Actividad antiinflamatoria.....	22
1.4.3 Actividad antimicrobiana.....	22
1.4.5 Actividad hipolipemiente.....	22
1.4.6 Actividad hipoglucemiante.....	23
METODOLOGÍA .....	24
2.1 Tipo de investigación .....	24
2.2 Enfoque de la investigación.....	24
2.3 Población .....	24
2.3.1 Material de estudio .....	24
2.4 Hipótesis .....	24

2.5 Variables .....	24
2.6 Métodos y técnicas de procesamiento .....	25
2.6.1 Preparación de la muestra .....	25
2.6.2 Análisis proximal de la cascarilla de café .....	25
2.7 Preparación de extractos.....	27
2.8 Análisis cromatográfico en capa delgada .....	28
2.9 Análisis mediante CLAE-EM .....	28
2.10 Cuantificación de metabolitos secundarios o especializados .....	29
2.10.1 Fenoles totales .....	29
2.10.2 Taninos totales .....	30
2.10.3 Cuantificación de cafeína por espectroscopia UV-Visible.....	30
2.11 Determinación de la capacidad antioxidante .....	31
2.11.1 Método FRAP .....	31
2.11.2 Método DPPH.....	31
2.12 Ensayo hipoglucemiante <i>in vivo</i> .....	32
2.12.1 Animales de experimentación .....	32
2.12.2. Descripción del experimento .....	32
2.13 Análisis estadístico .....	34
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
3.1 Análisis proximal de las variedades de cascarilla de café.....	36
3.1.1 Humedad residual.....	36
3.1.2 Grasas .....	37
3.1.3 Proteínas.....	37
3.1.4 Cenizas totales .....	38
3.1.5 Minerales .....	38
3.1.6 Fibras .....	40
3.2 Rendimiento de la extracción .....	41

3.3 Análisis cromatográfico en capa delgada (CCD).....	42
3.3.1 Perfil cromatográfico con revelado físico.....	42
3.3.2 Perfil cromatográfico con revelado químico.....	43
3.4 Determinación de metabolitos mediante CLAE/EM.....	46
3.5 Cuantificación de metabolitos.....	51
3.6 Determinación de la capacidad antioxidante.....	54
3.7 Correlación entre compuestos fenólicos y actividad antioxidante.....	56
3.8 Ensayo hipoglucemiante <i>in vivo</i> .....	57
CONCLUSIONES.....	62
RECOMENDACIONES.....	63
BIBLIOGRAFÍA.....	64
ANEXOS.....	76
Anexo 1. Espectro de masas de la trigonelina.....	76
Anexo 2. Espectro de masas y UV del ácido quínico.....	76
Anexo 3. Espectro de masas del ácido cafeico.....	77
Anexo 4. Espectro de masas y espectro UV del ácido-5-cafeoilquínico/ácido-3-cafeoilquínico.....	77
Anexo 14. Curva de calibración con ácido gálico.....	82
Anexo 15. Curva de calibración con cafeína.....	83
Anexo 16. Curva de calibración con TEAC/DPPH.....	83
Anexo 17. Curva de calibración con FRAP.....	84

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Análisis proximal de subproductos de C. arabica en % de peso seco.....	18
Tabla 2. Análisis proximal de la cascarilla de café. ....	19
Tabla 3. Agrupación de los modelos murinos para ensayo hipoglicemiante. ....	33
Tabla 4. Resultados del análisis proximal de las tres variedades de C. arabica. ....	36
Tabla 5. Resultados de análisis foliar en las tres variedades de C. arabica.....	40
Tabla 6. Metabolitos determinados mediante CLAE/EM .....	49
Tabla 7. Cuantificación de fenoles totales, taninos y cafeína.....	52
Tabla 8. Determinación de la capacidad antioxidante por los métodos DPPH y FRAP. .....	55
Tabla 9. Matriz de correlación entre fenoles, taninos y actividad antioxidante .....	56
Tabla 10. Niveles de glucosa en sangre en el tiempo. ....	58

## LISTA DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Procedimiento secuencial del ensayo in vivo.....	34
Ilustración 2. Resultados de la CCD con revelación física UV FM: BAW 65:15:25. ....	43
Ilustración 3. Resultados de la CCD para las tres variedades de C. arabica con reveladores químicos FM: BAW 65:15:25. ....	45
Ilustración 4. Resultados de CCD para las tres variedades de C. arabica frente al estándar de cafeína.....	46
Ilustración 5. Cromatogramas de la corriente iónica principal (I) y con el detector de arreglo de diodos (II) de las muestras de C. arabica variedad Acawa (A), Bourbon Sidra (B) y Sarchimor (S) .....	47
Ilustración 6. Resultados de la CCD para fase acuosa y clorofórmica utilizando como FM: acetato de etilo: ácido acético glacial y como revelador luz UV a 254 nm.....	53
Ilustración 7. Curva de glucosa en los grupos experimentales. ....	60



## INTRODUCCIÓN

El café se considera una de las bebidas más consumidas a nivel mundial. Se estima el consumo diario de 2,25 billones de tazas de café a escala mundial, destacando la especie *Coffea arabica* que aporta con el 70%, gracias a sus propiedades organolépticas de calidad superior. A dicha bebida se le atribuyen diversos efectos en la salud humana por su contenido en compuestos químicos como polifenoles, alcaloides y aminoácidos, siendo los metabolitos predominantes la cafeína, el ácido clorogénico, el ácido cafeico, el ácido ferúlico, entre otros (Fernández, Sotto y Vargas, 2020). Con respecto a las propiedades terapéuticas del café se menciona su capacidad antioxidante, anticancerígena y antiinflamatoria (Ali et al., 2022).

En la producción del café se generan subproductos potencialmente aprovechables por su contenido de metabolitos especializados, específicamente la cascarilla destaca por un considerable valor nutricional (Cangussu et al., 2021). En gran parte de localidades donde se procesa el café no se tiene un adecuado sistema para la gestión de residuos, lo que resulta en que la cascarilla desechada libere componentes como la cafeína, taninos y ácido clorogénico en el medio ambiente, incluso en fuentes de agua. Según Tolessa et al., (2022) hay que considerar que, principalmente, la cafeína es un compuesto ecotoxicológico capaz de provocar graves daños en organismos acuáticos y mamíferos, provocando un crecimiento anormal y una reducción en su fertilidad. De la misma manera se menciona que los taninos y la cafeína pueden tener efectos negativos sobre la flora y el crecimiento normal de microorganismos, el nivel de daño dependerá de la sensibilidad que tenga el organismo y la concentración a la que se expone el mismo.

Dependiendo del método de procesamiento se genera una cantidad considerable de residuos que van del 30-50% de la carga producida de café (Tolessa et al., 2022). De esta manera, la elección del tema se fundamenta en que el café más allá de ser una bebida cotidiana, posee subproductos de composición fitoquímica potencialmente beneficiosa para la salud, siendo interesante identificar las diferencias entre variedades para brindar información que sirva como base en la elaboración de productos con potencial terapéutico.

En la investigación se propone un estudio comparativo entre variedades de *C. arabica* siendo estas A, S y B, todas en estado de madurez óptima del fruto. Finalmente, para la

determinación de estas características se busca emplear técnicas de extracción y análisis incluyendo la cromatografía y la espectroscopía para separar, cuantificar e identificar componentes presentes en la muestra. Por todo lo antes expuesto la presente investigación se propone los siguientes objetivos

### **Objetivo general**

Evaluar la composición química y actividad biológica de la cascarilla de tres variedades de *C. arabica* mediante métodos cromatográficos y espectroscópicos, para la generación de evidencias que sustenten su posible aprovechamiento en la industria farmacéutica y alimentaria.

### **Objetivos específicos**

- Realizar el análisis bromatológico de las cascarillas de *C. arabica* variedades Acawa, Bourbon sidra y Sarchimor, mediante algunas determinaciones que evidencien el valor nutricional y calidad de la materia prima vegetal.
- Identificar los principales metabolitos especializados mediante cromatografía en capa delgada y cromatografía líquida de alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas, para su comparación con resultados antes referidos en la bibliografía.
- Cuantificar los principales metabolitos especializados presentes en las matrices vegetales, mediante métodos espectroscópicos para su debida correlación con la actividad biológica.
- Analizar la capacidad antioxidante de las tres variedades de cascarilla de café mediante dos técnicas colorimétricas, para la correspondiente justificación de su aplicación en el campo de la salud humana.
- Determinar la capacidad hipoglucemiante preliminar de la cascarilla de café, mediante métodos *in vivo*, para la validación de su posible empleo en el campo farmacéutico.

## MARCO TEÓRICO

### 1.1 Fitología del café

En la familia Rubiaceae existen cerca de 500 géneros entre los cuales destaca *Coffea* por su gran importancia económica. A su vez este género se compone por un aproximado de 100 especies con diversos orígenes geográficos; de la misma manera estas son variadas en cuanto a su tamaño pero coinciden en ciertas características como la densidad de su madera, flores con corolas blancas o rosadas y su fruto es polispermo (Romero, 2019). A nivel mundial las especies que representan una mayor producción son *C. arabica*, *C. canephora*, *C. liberica* y *C. excelsa*, siendo las dos primeras las especies que lideran la producción mundial (Melesy y Kolech, 2021).

#### 1.1.1 Morfología.

*C. arabica* se caracteriza por ser un árbol pequeño y liso que en ciertas ocasiones solo crece hasta considerarse un arbusto. Romero (2019) menciona que las hojas de esta especie son pequeñas pero su ancho varía apreciablemente. En cuanto al largo se establece un promedio de 12 a 15 cm y cerca de 6 cm de ancho con forma oval o elíptica. Por otro lado, Ferreira et al., (2019) establece que las hojas son delgadas, brillantes y agudas en la base, siguiendo su patrón de crecimiento en pares opuestos en la rama. Cabe destacar que el color de las hojas puede variar dependiendo de la especie y variedad, en el caso de *C. arabica* estas son verde claro, aunque en ciertas ocasiones pueden ser de color bronce.

Con respecto a las flores, Klingel et al. (2020) refiere que las plantas de café adultas producen más de 30000 flores, principalmente blancas, sobre todo cuando se trata de *C. arábica*, puesto que *C. canephora* llega a producir más. La función que cumplen es prevenir la deshidratación y repeler a los insectos y una vez secas se pueden utilizar para elaborar una tisana pues en su composición tienen cerca de 1 g de cafeína y trigonelina por cada 100 g de peso seco. Las flores de la planta de café se forman de una corola con cinco lóbulos y un pistilo, la base de la corola tiene el ovario que una vez fertilizado torna las anteras de color café para posteriormente caerse dejando descubierto al ovario para que se forme el fruto (Romero, 2019).

Por su parte, el fruto del café contiene capas en su interior que rodean a la semilla donde se encuentra conformado por embrión, endospermo y perispermo (Ferreira et al., 2019). Se define como una baya que se compone de pulpa, exocarpio y mucílago. Los granos que se encuentran al interior se recubren por 2 capas, la primera es el pergamino siendo una capa dura pero fácil de romper y la segunda en una película plateada también conocida como piel plateada. Específicamente, la semilla es oblonga y su tamaño puede variar en un promedio de 10 cm de largo y 6,5 cm de ancho (Romero, 2019).

### 1.1.2 Fenotipificación de variedades

Existe una gran extensión de variedades que componen la especie *C. arabica*, se puede señalar que entre ellas guardan similitud, sin embargo, existen ciertas características que permiten su diferenciación. En cuanto a la variedad A se destaca por su tamaño pequeño con entrenudos cortos, además se caracteriza porque sus frutos son grandes y de color rojo, sin embargo, tarda mucho más en madurar con respecto a otras variedades. Se la conoce por ser resistente a la roya de café y tener buena tolerancia en casos de sequía (Romero, 2019).

De acuerdo con la guía de variedades de café detallada por la Asociación Nacional de Café (Anacafé) de Guatemala (2019), la variedad B tiene una forma cónica no tan acentuada con abundantes ramas secundarias. Su fruto se caracteriza por ser más pequeño que otras variedades, pero su coloración es más rojiza cuando alcanza la madurez. En cuanto a su altura, esta variedad llega a alcanzar los tres metros lo que la hace susceptible a caída de los frutos ya sea por acción del viento o lluvias. Además, Bourbon es una variedad que alcanza la madurez más rápido con respecto a otras variedades de *C. arabica*.

La variedad S surge del cruzamiento entre Villa Sarchi y el híbrido Timor, posee un tamaño pequeño y tiene entrenudos cortos al igual que la variedad A, sin embargo, se diferencia por tener una mayor ramificación secundaria llegando a tener ramas muy largas. Otro factor que la diferencia es que sus frutos varían en color del rojo al amarillo y presenta ciertos brotes verdes en sus ramas (Romero, 2019).

## 1.2 Procesamiento del café

A pequeña escala el procesamiento del café es directo y se puede dividir en 3 métodos principales, se inicia con la selección de las cerezas y su debida clasificación ya sea por

una recolección y separación manual o mediante inmersión en agua. Cuando el procesamiento se realiza por el método seco las cerezas se colocan bajo el sol o en la sombra en un ambiente que propicie la pérdida de agua. También se pueden secar de manera artificial con una fuente suave de calor, posteriormente se retira la cáscara dejando expuesto el grano de café (Febrianto y Zhu, 2023). Ya sea bajo el sol o con secadores de aire se debe controlar hasta que la humedad baje a un 10-12% y se retira la materia extraña para dejar sólo las cerezas secas a las que se les retira la capa externa, de manera manual o con maquinaria, en este punto es donde se elimina la llamada cascarilla de café.

El método en seco es más sencillo en comparación al húmedo, sin embargo, este último tiene como objetivo la obtención de una bebida de mayor calidad; iniciando así con la recolección de cerezas maduras separadas mediante flotación para despulpar, remojar y fermentar, eliminando pulpa restante y piel plateada. En este método las cascarillas se obtienen mecánicamente después del lavado, se puede afirmar que la diferencia entre ambos métodos de procesamiento radica en que el método húmedo elimina las partes exteriores de la semilla antes del secado, es decir durante y después de la fermentación lo que puede representar una variable que afecta la calidad de la cascarilla obtenida en ambos métodos (Das, 2022).

### **1.3 Cascarilla de café**

#### *1.3.1 Generalidades*

La cascarilla se compone de piel, pulpa y pergamino obtenidos tras el secado de las cerezas de café por una separación mecánica. De manera general se afirma que tiene un contenido considerable de proteínas, lípidos, minerales y carbohidratos en proporciones variables. Se menciona, además, que la cascarilla de café tiene fibras, compuestas por celulosa, hemicelulosa y lignina, así como cafeína y compuestos fenólicos, que hacen a este subproducto un recurso ideal para el desarrollo de diversos productos. En Yemen y Etiopía se utiliza la cáscara de café en una infusión tradicional, así como para la producción de elixires y suplementos de fibra dietética, sin embargo, en América Latina su uso no está muy difundido (Klingel et al., 2020).

### 1.3.2 Análisis proximal

De acuerdo a un análisis nutricional aplicado a diferentes subproductos de *C. arabica*, Machado et al. (2023) determinaron los porcentajes en peso seco de varios componentes como cenizas, proteína, grasas, fibra dietética total, así como la fibra dietética soluble e insoluble y los carbohidratos disponibles, como se observa en la Tabla 1.

**Tabla 1. Análisis proximal de subproductos de *C. arabica* en % de peso seco.**

<b>Parámetro</b>	<b>Pulpa</b>	<b>Cáscara</b>	<b>Pergamino</b>	<b>Piel plateada</b>
<b>Ceniza</b>	10,72 ± 0,21	7,86 ± 0,07	0,65 ± 0,05	9,47 ± 0,06
<b>Proteína</b>	10,23 ± 0,08	8,77 ± 0,14	1,66 ± 0,07	16,31 ± 0,12
<b>Grasas</b>	1,70 ± 0,01	1,06 ± 0,07	0,18 ± 0,03	2,91 ± 0,09
<b>Fibra dietética (FD) total</b>	46,12 ± 0,00	39,04 ± 0,49	94,19 ± 0,38	65,87 ± 0,00
<b>FD insoluble</b>	36,99 ± 0,08	32,13 ± 0,28	93,62 ± 0,39	56,86 ± 0,00
<b>FD soluble</b>	9,13 ± 0,07	6,91 ± 0,21	0,57 ± 0,01	9,01 ± 0,00
<b>Carbohidratos</b>	31,23 ± 0,29	43,27 ± 0,48	3,32 ± 0,28	5,44 ± 0,24

Cabe destacar que lo que se denomina cascarilla de café puede variar en diferentes investigaciones en este caso se analizó la pulpa, cáscara, pergamino y piel plateada por separado de tal manera que cada subproducto mostró porcentajes variados en cada parámetro. Esto coincide con Cangussu et al. (2021) quien manifiesta que existe una gran variabilidad en las composiciones proximales reportadas en la literatura como se muestra en la Tabla 2, siendo los componentes con mayor variabilidad los carbohidratos, celulosa, hemicelulosa y lignina. Dicha variabilidad se atribuye más a la falta de una definición adecuada del término cascarilla de café, que a la variabilidad agronómica y a los métodos de procesamiento.

**Tabla 2. Análisis proximal de la cascarilla de café.**

Parámetro	Rango (%)
Lípidos	0,5-3
Proteínas	7-17
Cenizas	3-7
Carbohidratos	16-85
Celulosa	14,7-46,1
Hemicelulosa	10,2-29,7
Lignina	10,1-34,2

### 1.3.3 Metabolitos especializados

La cascarilla de café se caracteriza por contener cafeína, compuestos fenólicos, pectina, monosacáridos y disacáridos, estos componentes bioactivos otorgan a este subproducto del procesamiento del café un considerable potencial antioxidante, así como antimicrobiano, antialérgico, antihipertensivo, estimulante, entre otros (Prihadi et al., 2020).

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios aromáticos que se sintetizan por la vía de los fenilpropanoides y en las plantas ejercen mecanismos de defensa contra patógenos, gracias a sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes, contribuyendo a la evasión de infecciones en la planta, así como la protección de sus tejidos del efecto tóxico por especies reactivas del oxígeno (Kumar et al., 2020). Específicamente en la cascarilla de café los compuestos fenólicos presentes se subdividen en ácidos hidroxibenzoicos, ácidos hidroxicinámicos, ácidos fenilacéticos, monómeros de flavan-3-oles, dímeros de flavan-3-oles y flavonoles. Rebollo et al. (2021) destacó como los principales compuestos presentes al ácido clorogénico (ACG), seguido del ácido protocatéquico, kaempferol y ácido gálico, luego de una caracterización química por cromatografía líquida de alta eficacia acoplada a espectrometría de masas (CLAE/EM).

De acuerdo con Lu et al., (2020) los ácidos clorogénicos (ACGs), componentes predominantes en la cascarilla de café, son un grupo de hidroxicinamatos donde destaca el ácido 5-O-cafeoilquínico (5-CQA). Esto coincide con Esquivel et al. (2020) quien afirma que el ACG predominante en 5 especies de café, incluyendo *C. arabica*, fue el 5-

CQA. Además, se menciona que se identificaron compuestos fenólicos adicionales en la cáscara y no en la pulpa, tales como la catequina y hexóxidos de epicatequina, así como la rutina.

Los flavonoides también destacan como componentes de la cascarilla de café. Son compuestos fenólicos polihidroxilados que cuentan con 2 anillos aromáticos en su estructura y se unen por 3 átomos de carbono formando su estructura base C6-C3-C6. La estructura del anillo C3 determina la naturaleza del compuesto, los que se clasifican en flavonas, flavonoles, flavanonas, catequinas, antocianidinas, isoflavonas, entre otros (Coello et al., 2021). El contenido de flavonoides totales en una muestra de cascarilla de café oscila entre 5,52 y 10,10 mg/g de acuerdo con Rebollo et al. (2021), mismo autor que destaca entre los flavonoides al kaempferol. Por su parte, Sangta et al. (2021) menciona que predomina el galato de epigallocatequina, seguido de naringenina, galocatequina, galato de epicatequina, quercetina y flavan-3-oles monoméricos.

Con respecto a la cafeína y trigonelina, se trata de alcaloides muy solubles en agua por lo que se considera una pérdida durante el procesamiento industrial en caso de utilizar agua. De acuerdo con Cangussu et al. (2021) en la cascarilla de *C. arabica* hay hasta  $696,22 \pm 4,86$  mg de cafeína por cada 100 g de cascarilla. En cuanto a la trigonelina puede alcanzar concentraciones de  $542,80 \pm 6,54$  mg/100 g. Sin embargo, la pérdida de ambos compuestos es muy significativa siendo la trigonelina el componente que representa un mayor porcentaje de pérdida al ser más soluble en agua en comparación a la cafeína. Además, se menciona que el contenido de estos alcaloides es mucho mayor en la cascarilla en comparación con otros subproductos. En ciertos casos incluso representa más de la mitad de los alcaloides presentes en el grano de café total.

Cabe destacar la presencia de polisacáridos en la cascarilla de café, según Mohammed et al. (2021) estos componentes son polímeros macromoleculares capaces de brindar estructura, protección y respuesta a estímulos. Para la determinación de la estructura de polisacáridos presentes en la cascarilla de *C. arabica* se requiere identificar los monosacáridos siendo el porcentaje molar relativo de 25,24, 32,92, 11,91 y 15,84 para arabinosa, xilosa, galactosa y glucosa, respectivamente (Cangussu et al., 2021).

Las antocianinas se caracterizan por presentar una coloración vibrante por lo que en las plantas cumplen funciones de colorantes naturales además de antioxidantes. En la cascarilla de café predomina la cianidina-3-rutinósido. Lozada et al. (2023) menciona



que son sustancias muy susceptibles a degradarse por el cambio de factores como el pH, la temperatura, luz, enzimas y oxígeno por lo que su estabilidad se considera baja. Para que las antocianinas se mantengan estables las condiciones de pH deben estar por debajo de 3 y a una temperatura menor de 40 °C en ausencia de luz.

Por otro lado, los taninos son, generalmente, extraídos de hojas y cortezas de árboles donde su concentración varía dependiendo de la especie entre un 2 y 40%, sin embargo, en la cascarilla de café se determinó un porcentaje del 10,05% de acuerdo con Prihadi et al., (2020).

## **1.4 Actividad biológica**

### *1.4.1 Actividad antioxidante*

Se entiende por actividad antioxidante la capacidad de un compuesto para neutralizar radicales libres presentes en las células y evitar la formación de peróxido de hidrógeno y oxígeno triplete. Estos radicales ejercen un impacto negativo en los organismos y a su vez se relacionan con el estrés oxidativo. Los compuestos antioxidantes se pueden clasificar en primarios y secundarios siendo los que están presentes en la cascarilla de *C. arabica* de tipo primarios puesto que inhiben la cadena de oxidación al dar hidrógenos o aceptar radicales libres, generando unos más estables. Dentro de este grupo destacan aquellos con estructuras fenólicas como flavonoides, catequinas, carotenoides, entre otros (Munteanu y Apretei, 2021). Se señala que los polifenoles presentes en la cascarilla de café tienen una actividad antioxidante de 13 mg/g de cascarilla bajo el método con reactivo DPPH (Prihadi et al., 2020).

En diversos estudios se ha detallado la actividad antioxidante en extractos de cascarilla de café bajo métodos de extracción adecuados para compuestos sensibles, por ejemplo el baño ultrasónico. En una investigación desarrollada por dos Santos et al., (2021) se utilizaron los métodos con el reactivo DPPH y el ácido 2,2'-azino-bis-(3-etiltiazolina-bencenosulfónico-6) (ABTS) con el fin de comparar los resultados con el antioxidante sintético butilhidroxitolueno (BHT). Se concluye que dependiendo del método y las condiciones el contenido de componentes antioxidantes varía. Sin embargo, los extractos de cascarilla de café siempre muestran un notable potencial antioxidante incluso superando al BHT en ciertas ocasiones.

#### 1.4.2 Actividad antiinflamatoria

En cuanto a la actividad antiinflamatoria se hace referencia al potencial para inhibir el proceso inflamatorio que deriva del propio sistema inmune. Se ha descrito que los flavonoides y triterpenos contribuyen al efecto antiinflamatorio gracias a su mecanismo que inhibe la prostaglandina sintetasa, lo que reduce los niveles de prostaglandinas responsable de los procesos inflamatorios (Rodríguez et al., 2020). Si bien es cierto que no se reportan estudios referentes a la propiedad antiinflamatoria en la cascarilla de *C. arabica*, los compuestos fenólicos como el ACG presente en especies vegetales son capaces de disminuir la inflamación, además se describe el mecanismo antiinflamatorio del ACG basado en su potencial para impedir la síntesis y secreción de citoquinas proinflamatorias, óxido nítrico (NO) y prostaglandina E2 (PGE2) (Huang et al., 2023).

#### 1.4.3 Actividad antimicrobiana

Por su parte, la actividad antimicrobiana corresponde a la capacidad de inhibición del crecimiento microbiano, misma que en la cascarilla de café se atribuye a la presencia de ACG y melanoidina. Pisco et al. (2023) determinó que el extracto etanólico de cascarilla de *C. arabica* tuvo un porcentaje de inhibición del 74,62% para la bacteria *Escherichia coli*, con un crecimiento sólo de 15,38 unidades formadoras de colonias (UFC). A pesar de que en el mismo estudio se afirma que el extracto con acetona y hexano logró una inhibición del 100%, estos no son seguros en caso de que se requiera el extracto para la elaboración de productos dirigidos al consumo o aplicación tópica, debido a su grado de toxicidad.

#### 1.4.4 Actividad hipolipemiente

Se entiende como la propiedad que disminuye los niveles de lípidos en sangre. De acuerdo con Bangar et al. (2023), el kaempferol presente en las cascarillas de *C. arabica* es un compuesto bioactivo capaz de reducir la oxidación de lípidos en el organismo. De la misma manera Elsayy y Serag El-Din, (2021) concluyeron en un estudio que la inclusión de cascarillas en la dieta de modelos animales hiperlipidémicos, mostró una reducción del colesterol total, lipoproteína de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) mientras que aumentó las lipoproteínas de alta densidad (HDL) con valores de 117,41, 24,46 y 47,46 mg/dL, respectivamente.

#### *1.4.5 Actividad hipoglucemiante*

Referente a la actividad hipoglucemiante se entiende como la capacidad de disminuir la absorción y concentración de glucosa a nivel sanguíneo, se afirma que numerosas especies vegetales cuentan posiblemente con esta actividad biológica y uno de los mecanismos por los que actúan en su mayoría es reduciendo la velocidad a la que se absorben los carbohidratos y retrasando el vaciado gástrico gracias al aumento de la viscosidad que genera el mucílago (López, 2006). En el caso de la cascarilla de café, se destaca por su contenido de fibra que es del 89 - 91% según Benítez et al., (2019) lo que plantea su efecto hipoglucemiante como una consecuencia de la alta concentración de fibra. De acuerdo con Gauna (2021) la fibra es capaz de mejorar el perfil glucémico gracias a diversos mecanismos entre los que se menciona una reducción en la densidad de calorías, aumento de la sensación de saciedad y una disminución en la absorción de glucosa a nivel del intestino delgado ya que retiene tanto las moléculas de glucosa como las de grasa.

## METODOLOGÍA

### 2.1 Tipo de investigación

La presente investigación se llevó a cabo el año 2024, en la ciudad de Machala, perteneciente a la provincia de El Oro. El presente trabajo de investigación se clasifica como descriptivo, analítico y experimental, y fue ejecutado en la Universidad Técnica de Machala, específicamente en el laboratorio de investigación de la Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud.

### 2.2 Enfoque de la investigación

La investigación se catalogó de tipo cuantitativa, donde se recolectaron datos para su interpretación y correlación, a través de técnicas cromatográficas, espectroscópicas y estadísticas.

### 2.3 Población

La materia vegetal que se estudió fue la cascarilla de *C. arabica* que se obtuvo por procesamiento húmedo realizado al fruto maduro de café, recolectado en el mes de abril del año 2024. Cabe destacar que se trató de tres muestras de la misma especie, pero distintas variedades siendo A, S y B, las dos primeras procedentes de “Don Salvador Café” en el cantón Las Lajas, mientras que B fue recolectada en el cantón Zaruma, ambos de la provincia de El Oro.

#### 2.3.1 Material de estudio

Cascarillas de *C. arabica*, variedades A, B y S.

### 2.4 Hipótesis

H<sub>0</sub>: Las variedades de *C. arabica*, A, B y S objeto de estudio difieren en su composición química y como consecuencia en su actividad biológica.

H<sub>1</sub>: Las variedades de *C. arabica*, A, B y S objeto de estudio no difieren en su composición química y como consecuencia en su actividad biológica.

### 2.5 Variables

Variable independiente: Cascarillas de *C. arabica* variedades A, B y S.

Variable dependiente: Composición química y en consecuencia actividad biológica.

## 2.6 Métodos y técnicas de procesamiento

### 2.6.1 Preparación de la muestra

El procesamiento de secado se realizó a 45 °C en estufa con recirculación de aire forzado al 100%, con trampilla abierta al 100% durante 24 horas. La materia prima se almacenó en fundas con doble cierre hermético zipper a temperatura ambiente. Se redujo el tamaño de partícula en el equipo DISINTEGRATOR (HSD-400A), se pasó el polvo obtenido por un tamiz de 850 micras y se envasó en bolsas herméticas y en una desecadora para su análisis.

### 2.6.2 Análisis proximal de la cascarilla de café

Para el análisis químico proximal de la muestra se determinó la humedad, minerales, grasas, proteínas, fibras y cenizas totales. Todos los ensayos se realizaron por triplicado para dar como resultado la media y desviación estándar.

- Determinación de humedad

Se realizó con ayuda de una termobalanza (OHAUS, modelo MB90,) con fuente de calentamiento halógeno, a una temperatura de 105 °C y hasta lograr un peso constante.

- Determinación de grasas

Se determinó mediante la técnica establecida por Pilco et al. (2021) modificada. Se inició colocando un cartucho de papel filtro con 2 g de muestra en un embudo Soxhlet y se añadió 200 mL de hexano de grado de HPLC (Fisher Chemical). La extracción tuvo una duración de 4 horas y se utilizaron planchas calefactoras Electric Life. Una vez obtenido el extracto se colocó a sequedad utilizando un rotaevaporador (HEIDOLPH LABOROTA 4001 Efficient) con un criostato acoplado modelo LAUDA/ALPHA RA-8 y una bomba de vacío VACUUBRAND PC 600. Se determinó el porcentaje de grasas por gravimetría mediante la ecuación que se describe a continuación.

$$\% \text{ grasas} = \frac{m_2 - m_1}{m} \times 100 \quad (1)$$

Donde;

$m_2$ : Peso del balón con extracto concentrado (g)

$m_1$ : Peso del balón vacío (g)

m: Peso de la muestra (g)

- Determinación de proteínas

Para su determinación se tuvo como base el método Kjeldahl y el factor de conversión de nitrógeno a proteínas. Dicho procedimiento se realizó en el laboratorio Nemalab.

- Determinación de cenizas totales

Se desarrolló el método propuesto por la Association of Official Analytical Chemist (1990), con algunas modificaciones. las muestras de droga seca se colocaron en un desecador a temperatura ambiente, los crisoles fueron calentados previo al ensayo en estufa (MEMMERT UF 55) a 110 °C. Luego, la muestra vegetal se incineró en mufla (Nambertherm L-150 KICN) a 700 °C por 6 horas. Posteriormente, se colocaron en un desecador hasta que alcanzó la temperatura ambiente para determinar su peso en la balanza analítica (RICE LAKE). El porcentaje de cenizas totales se calculó mediante las fórmulas 2 y 3.

$$C_1(\%) = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100 \quad (2)$$

$$C_t = \frac{C_1 \times 100}{100 - H} \quad (3)$$

Donde:

$C_1$  corresponde a las cenizas totales en base hidratada,

$C_t$  cenizas totales

M masa del crisol vacío en gramos

$M_1$  masa del crisol con la muestra en gramos

$M_2$  masa del crisol con la ceniza en gramos y,

H: porcentaje de humedad residual.

- Determinación de minerales

Los minerales K, Mg, Na, Zn, P, Cu, Mn, Fe y Ca se determinaron mediante las técnicas establecidas por NEMALAB S.A., por el método de digestión húmeda con ácido nítrico y ácido perclórico 2:1. Por otro lado en el caso de nitrógeno total se empleó micro

Kjeldahl y para la lectura de las concentraciones se requirió de espectroscopía de absorción atómica.

- Determinación de fibra total

Para la determinación cuantitativa de fibra total (FT) en las muestras vegetales se utilizó el método gravimétrico siguiendo el procedimiento establecido por la normativa PEEL/LA/16 INEN 522 (INEN, 1981). Se colocó 1 g de droga cruda, previamente desengrasada, en una bolsa de Weender y se sumergió en acetato de etilo, lo cual se colocó en la bandeja de digestión del DIGESTOR de Fibra Cruda (VELT). Posterior a ello se añadió 1 L de ácido sulfúrico 0,2 N asegurando su hermeticidad y se activó el equipo por 1 hora a 100 °C. Se realizaron dos lavados consecutivos con 1 L de agua destilada caliente, luego se añadió 1 L de hidróxido de sodio al 0,2 N y se activó el digestor por otra hora a 100 °C. Una vez seco y pesado el residuo se transfirió a un crisol previamente tarado y se sometió a 550 °C en mufla por 2 horas. Se enfrió en un desecador por 30 min y se pesó. Para el cálculo se consideró el peso del crisol vacío y con la muestra después de salir del equipo, además del peso de la muestra siguiendo la fórmula 4.

$$FT (\%) = 100 - \left[ \frac{(C_0+M)-(C_1)}{M} \times 100 \right] \quad (4)$$

Donde:

C<sub>0</sub> peso del crisol vacío (g)

C<sub>1</sub> peso del crisol con la muestra después del proceso de digestión (g)

M peso de la muestra (g).

## 2.7 Preparación de extractos

La relación que se utilizó para preparar los extractos es de 1:8 m/v donde la masa corresponde a los gramos de la cascarilla molida y el volumen son los mL del disolvente, mismo que se trata de una mezcla hidroalcohólica de etanol (PanReac AppliCHem) y agua destilada en proporción 80:20 v/v. Para la extracción se utilizó el método asistido por ultrasonido utilizando el baño (ULTRASONIC BATH 5.7 L, Fisher Scientific) ajustado a 30 °C por 30 minutos. El proceso de filtración se realizó en papel de calidad analítica (Pacheco y Almanza, 2018).

El rendimiento de la extracción se realizó por diferencia de peso entre el balón con el extracto seco y el balón vacío, donde el disolvente se eliminó mediante un

rotaevaporador (HEIDOLPH LABOROTA 4001 efficient). Para el cálculo se consideró el peso inicial de la droga cruda y el resultado se expresó en porcentaje de acuerdo a la fórmula 5.

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{P_{ES}}{P_{MV}} \times 100 \quad (5)$$

Donde:

$P_{ES}$  = Peso del extracto seco y,

$P_{MV}$  = Peso de la materia vegetal.

## 2.8 Análisis cromatográfico en capa delgada

La fase estacionaria consistió en Sílica Gel G60F<sub>254</sub> y para la aplicación de la muestra se requirió de capilares considerando 1 cm del borde inferior y manteniendo una distancia entre de 1 cm entre cada aplicación. Se emplearon dos fases móviles (FM); la primera (FM<sub>1</sub>) formada por 2-butanol (Fisher Chemical), ácido acético glacial (EMSURE) y agua (BAW) en proporción de 65:15:25, mientras que la FM<sub>2</sub> constó de 10 mL de acetato de etilo (J.T Baker) y 10 gotas de ácido acético glacial.

La corrida cromatográfica se desarrolló en una cámara cromatográfica ubicada en la campana de extracción de gases (Supreme Air). Como sistemas de revelado se utilizó una lámpara de luz ultravioleta para analizar a 254 y 365 nm. Como revelador químico se empleó la disolución de cloruro férrico al 5% en disolución salina; H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/vainillina y calor; ninhidrina al 2% en agua y DPPH al 0,2% en etanol.

## 2.9 Análisis mediante CLAE-EM

Para el análisis CLAE-EM se pesó 10 mg de extracto seco que se disolvió con metanol de calidad HPLC (Fisher Chemical). Se requirió además del sistema CLAE (Thermo Scientific, Ultimate 3000) con una bomba cuaternaria acoplada, más un automuestreador, compartimento de columna, sistema detector de diodos (DAD) DIONEX Ultimate 3000 RS, a su vez acoplado a un espectrómetro de masas (Thermo Scientific LTQ XL). Para la observación de los cromatogramas se empleó el software "Thermo Xcalibur".

Para la separación se empleó una columna Accucore RP-MS C18 con tamaño de 100 x 2,1 mm y tamaño de partícula de 2,6 µm. El flujo de elución fue de 0,4 mL por minuto y



la temperatura de la columna 35 °C. Se inyectó 2 µL de las muestras y se puso en contacto con la FM compuesta por una mezcla de acetonitrilo (A) y ácido fórmico al 0,1% (B). El análisis se desarrolló bajo un flujo de elución en gradiente que comenzó con 2% (A) durante los primeros 5 min, se incrementó a 20% (A) de 5-10 min, 50% (A) de 10-15 min, 95% (A) hasta los 21 min. Posteriormente, se restablecieron las condiciones iniciales de la columna durante 10 min. El espectrómetro de masas trabajó a una temperatura de 225 °C para el capilar y un voltaje de -50 V y 5 kV para el Spray. El flujo que se utilizó en el proceso de atomización se compone de un gas principal, gas auxiliar y un gas de barrido en 34:5:3 unidades arbitrarias, respectivamente. Se estudiaron las fracciones de las muestras en modo ion positivo y en modo ion negativo, por medio del modo Full Scan con rangos de 100-1000 Da, en modo dependiente masa/masa (MS/MS). Se utilizó el modo SIM para escanear iones específicos de las fracciones contenidas en las muestras estudiadas. La detección UV-Vis se realizó con cuatro longitudes de onda: 250, 280, 330 y 520 nm.

## **2.10 Cuantificación de metabolitos secundarios o especializados**

Todos los análisis de los extractos antes preparados se realizaron por triplicado, informándose la media y su desviación estándar (S).

### *2.10.1 Fenoles totales*

Para la determinación de fenoles totales presentes en la muestra se utilizó el método colorimétrico con reactivo de Folin Ciocalteu descrito por Singleton et al., (1999) con algunas modificaciones. Se preparó una curva de calibración con ácido gálico (AG) 10 mg/mL (Sigma Aldrich) variando su concentración en un rango de 0,1 a 0,9 mg/mL. Se tomó 50 µL de la muestra o del patrón de AG en tubos de ensayo, se añadió 2,5 mL de Folin-Ciocalteu (10%) y 450 µL de agua destilada. Esta mezcla se homogeneizó con el agitador vortex de Thermo Scientific USA y se dejó reposar por 5 minutos. Posteriormente se adicionó 2 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 7,5% agitando y dejando reposar por 120 minutos. La reacción se leyó en el espectrofotómetro (UV-Visible SPECTROPHOTOMETER Evolution 201 Thermo Scientific USA) a 765 nm con la ayuda de microceldas de 2 mL.

### *2.10.2 Taninos totales*

Con el objetivo de cuantificar los taninos totales presentes en la muestra se tomó como base la metodología planteada por Mex et al. (2022) modificada. El reactivo se preparó con 5 mL de disolución acuosa con gelatina sin sabor al 10% junto con una disolución de NaCl al 10% en HCl al 1% agitando dicha mezcla y ajustando el volumen a 50 mL con agua destilada, se dejó reposar 10 minutos para filtrar.

Luego se tomaron 50  $\mu$ L de la disolución de gelatina y se combinó con 50  $\mu$ L del extracto para incubar la mezcla por 30 minutos a 37 °C en baño María. Después, se sometió a centrifugación en Table top centrifuge PLC-03 a 10000 rpm por 10 minutos y luego se tomó 50  $\mu$ L del sobrenadante para determinar fenoles totales. El valor resultante se restó al antes obtenido en el epígrafe 3.10.1.

### *2.10.3 Cuantificación de cafeína por espectroscopia UV-Visible.*

Se realizó una curva de calibración tomando como base una disolución madre de cafeína 0.4 mg/mL. Posteriormente se prepararon disoluciones en el rango de 1 a 16  $\mu$ g/mL y se midió a 273 nm en espectrofotómetro UV-Visible (UV-Visible SPECTROPHOTOMETER Evolution 201 Thermo Scientific, USA) en celdas de cuarzo de 1 cm x 4 mL. La determinación de cafeína se llevó a cabo a partir del extracto hidroalcohólico mezclado con 10 mL de NaOH al 5% en agua. Luego, se combinó con cloroformo y se transfirió al embudo separador. Una vez separadas las fases se descarta la fase acuosa y la fase orgánica se llevó a sequedad con ayuda de un rotaevaporador (HEIDOLPH LABOROTA 4001 Efficient) con un criostato acoplado (LAUDA/ALPHA RA-8) y una bomba de vacío (VACUUBRAND PC 600).

Se mezcló el residuo obtenido se mezcló con CH<sub>3</sub>OH de calidad analítica para ser transferido a un balón volumétrico de 25 mL y la absorbancia de la disolución obtenida se debe medir a 273 nm. La concentración de cafeína se determinó mediante una ecuación de regresión lineal obtenida de la curva de calibración, previamente elaborada con el estándar de cafeína.

## 2.11 Determinación de la capacidad antioxidante

### 2.11.1 Método FRAP

El método FRAP se realizó bajo el procedimiento descrito por Benzie et al., (1996), que establece la preparación del reactivo combinando 25 mL de buffer de acetato a un pH de 3,6 más 2,5 mL de disolución 2.4.6-tris(2-piridil)-S-triazina (TPTZ) con una concentración de 10 mM, y finalmente 2,5 mL de disolución de FeCl<sub>3</sub> (20 mM). Posteriormente, la mezcla se incubó a 37 °C por 30 minutos y de esta manera el reactivo está listo para su uso en el ensayo.

La curva de calibración, se realizó utilizando trolox en disoluciones etanólicas (etanol absoluto PANREAC APPLICHEM) en concentraciones desde 0,027 hasta 0,227 mg/mL. El ensayo, se inició tomando 50 µL del estándar o muestra y se mezcló con 1,5 mL del reactivo FRAP, se esperaron, aproximadamente, 10 minutos y luego se realizó la lectura en el espectrofotómetro (UV-Visible SPECTROPHOTOMETER Evolution 201 Thermo Scientific, USA) a 593 nm, utilizando microceldas de 2 mL y tomando como blanco la disolución de FRAP. Los resultados fueron expresados como equivalentes a trolox (TEAC) por gramo de cascarilla (TEAC/g de cascarilla)

### 2.11.2 Método DPPH

Para esta determinación se siguió la metodología planteada por Brand-Williams et al., 1995 con modificaciones, lo que permitió evaluar la capacidad para secuestrar radicales libres luego de 30 minutos de reacción a temperatura ambiente y en ausencia de luz.

Para la curva de calibración se utilizaron disoluciones etanólicas de trolox en diferentes concentraciones que varían en el rango de 0,027 a 0,277 mg/mL. Se tomaron 200 µL de estas disoluciones y se mezcló con 3,8 mL del reactivo DPPH al 0,1 mM. La lectura se realizó a 517 nm empleando microceldas de 2 mL y etanol absoluto como blanco. El porcentaje de inhibición se calculó de acuerdo con la fórmula 6.

$$\%DPPH = \frac{A_{control} - A_{muestra}}{A_{control}} \times 100 \quad (6)$$

Donde,

$A_{control}$  se refiere a la absorbancia del control,

$A_{\text{muestra}}$  es la absorbancia de la muestra posterior a su reacción con DPPH por 30 minutos.

La cuantificación de la capacidad antioxidante fue expresada en mg equivalentes a trolox por gramo de muestra extraída, cálculo que se realizó con base en la ecuación de regresión lineal estableciendo la correlación entre el porcentaje de inhibición del radical libre DPPH y la concentración de trolox.

## **2.12 Ensayo hipoglucemiante *in vivo***

El presente ensayo hipoglucemiante *in vivo* se realizó siguiendo la metodología descrita por Hernández (2007) con ciertas modificaciones, evaluándose la curva de tolerancia a la glucosa resultante del consumo de cascarilla de *C. arabica* frente a un antidiabético oral en ratones albinos.

### *2.12.1 Animales de experimentación*

Se utilizaron 20 ratones albinos de la especie *Mus musculus* cepa CD1 provenientes del bioterio de la Universidad Técnica de Machala, todos los ratones fueron machos, los que tenían de 6-8 semanas de nacidos y con un peso entre 25-30 g. Los animales fueron mantenidos en condiciones estandarizadas de laboratorio con una temperatura de  $22 \pm 2$  °C, humedad relativa del  $50 \pm 10\%$  y un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas. Todos los ratones tuvieron acceso libre al agua y alimento, hasta 12 horas antes de iniciar el experimento, realizándose su cuidado de acuerdo al manual de manipulación de animales de laboratorio.

### *2.12.2. Descripción del experimento*

Los ratones fueron divididos en cuatro grupos experimentales con cinco individuos por grupo, como se detalla en la Tabla 3.

Previo al ensayo todos los ratones fueron sometidos a un ayuno de 12 horas para estabilizar los niveles de glucosa en sangre. A cada ratón se les midió dicho parámetro y este resultado se denominó glucosa inicial ( $T_0$ ), formando los grupos en correspondencia con dichos valores.

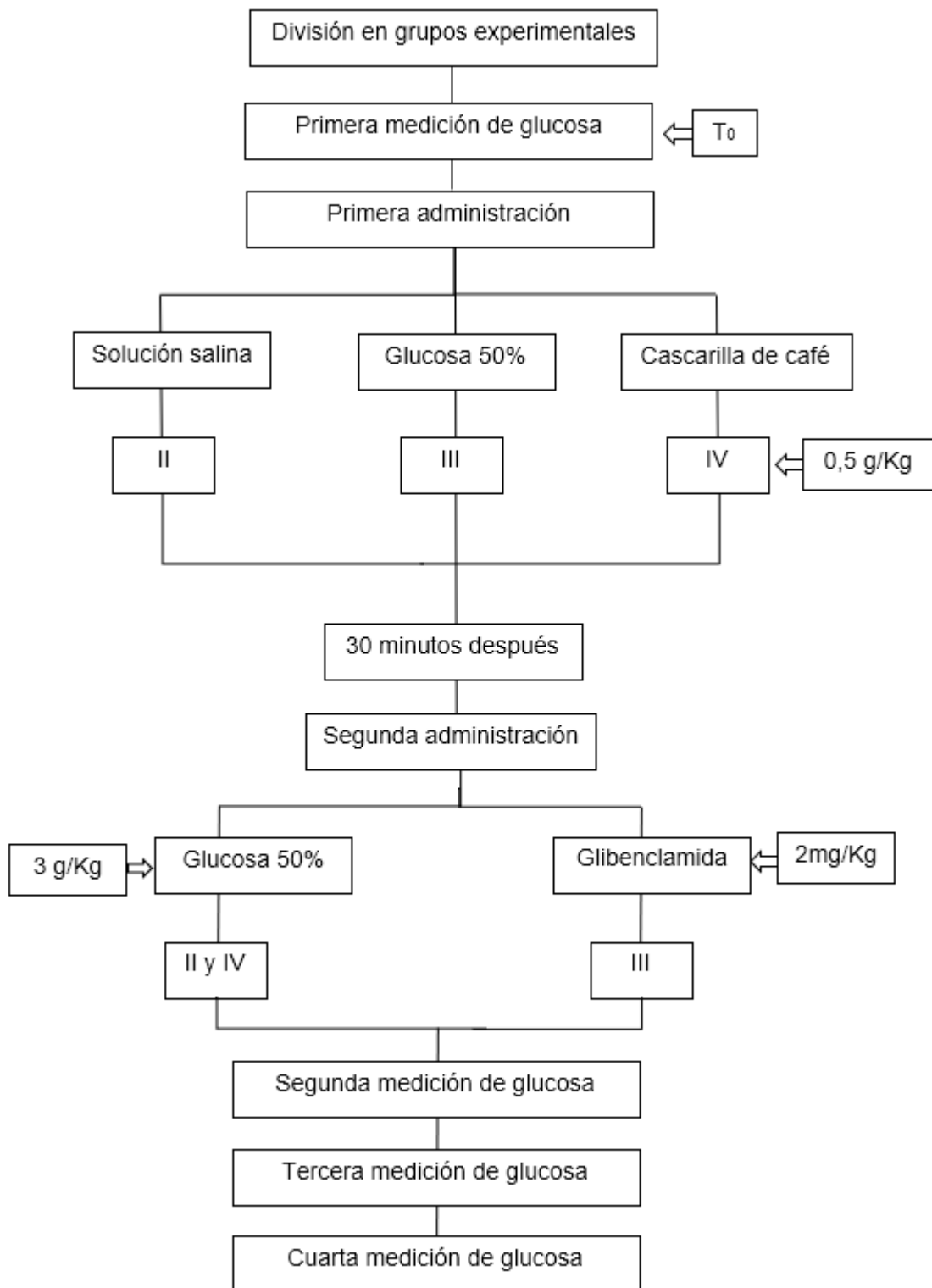
**Tabla 3. Agrupación de los modelos murinos para ensayo hipoglicemiante.**

Grupo	Tratamiento	Dosis
I Blanco	No se le administró ninguna sustancia	N/A
II Control negativo	Solución salina	2 mL
III Control positivo	Glibenclamida	2 mg/Kg
IV Cascarilla de café	Cascarilla de café variedad S	0,5 g/Kg

Posteriormente, se administran los tratamientos correspondientes a los grupos II y IV vía oral con la ayuda de una cánula orofaríngea. Luego de 30 minutos, se administra una dosis de glucosa de 3 g por Kg de peso en disolución acuosa de glucosa al 50% vía oral. En el caso del grupo III correspondiente al tratamiento con glibenclamida la administración de la glucosa se hace 30 minutos antes del medicamento. Se debe tomar en cuenta que los tratamientos sólidos se acompañaron con una adecuada cantidad de agua purificada para facilitar su administración a través de la cánula orofaríngea.

Se utilizó un glucómetro y tiras reactivas de la marca ACCU-CHEK<sup>®</sup> Instant para la medición de los niveles de glucosa en sangre y las muestras se obtuvieron de la vena caudal de los ratones a los 30 (T<sub>1</sub>), 60 (T<sub>2</sub>) y 120 (T<sub>3</sub>) minutos post-administración de la disolución acuosa de glucosa en el caso de los grupos III y IV. Para el grupo II las mediciones inician posterior a la administración del tratamiento con glibenclamida siguiendo el procedimiento detallado en la Ilustración 1.

**Ilustración 1. Procedimiento secuencial del ensayo in vivo.**



### **2.13 Análisis estadístico**

El análisis estadístico se realizó con los softwares Microsoft Excel 2019 y Jamovi versión 2.5, realizándose las pruebas descriptivas de medidas de tendencia central como la media y la desviación estándar. Además, se realizó la prueba de Shapiro-Wilk para evaluar que los datos sigan una distribución normal. Previo al test de Anova se determinó la homogeneidad entre las varianzas con la prueba de Levene. El test de Anova se utilizó para determinar las posibles diferencias significativas en las medias de los grupos para diferentes parámetros y fue acompañado de pruebas Post Hoc de Tukey para la comparación múltiple e identificación de los pares de grupos significativamente diferentes. Finalmente se realizaron pruebas de regresión lineal y se determinó el coeficiente de correlación de Pearson.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Análisis proximal de las variedades de cascarilla de café

El análisis proximal de la cascarilla de café valora las posibles aplicaciones en diferentes industrias, tomando en cuenta que la cascarilla de café es un subproducto significativo representa un gran potencial gracias a sus propiedades físico-químicas, gracias a este análisis es posible obtener datos esenciales como los parámetros detallados en la Tabla 4 para cada variedad estudiada, esto permite evaluar la calidad y potencial aprovechamiento de este subproducto (Cangussu et al., 2021; Poyilil et al., 2022).

El análisis estadístico reveló que los datos siguieron una distribución normal ( $p > 0,05$ ) y se indicaron diferencias significativas entre las variedades ( $p < 0,001$ ) para todos los ensayos excepto cenizas totales. De esta manera se plantea un alto nivel de significancia estadística indicando un nivel de confianza del 99,9%.

**Tabla 4. Resultados del análisis proximal de las tres variedades de C. arabica.**

Parámetro (%)	Variedad		
	Acawa Media $\pm$ S	Bourbon sidra Media $\pm$ S	Sarchimor Media $\pm$ S
Humedad residual	6,90 $\pm$ 0,46 <sup>a</sup>	2,36 $\pm$ 0,14 <sup>b</sup>	4,24 $\pm$ 0,31 <sup>c</sup>
Grasas	1,17 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	1,85 $\pm$ 0,11 <sup>b</sup>	1,48 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>
Proteínas	9,44	14,13	9,31
Cenizas totales	6,04 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	6,22 $\pm$ 0,28 <sup>a</sup>	6,33 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup>
Fibra	37,43 $\pm$ 0,66 <sup>a</sup>	18,94 $\pm$ 1,23 <sup>b</sup>	60,20 $\pm$ 0,64 <sup>c</sup>

S= desviación estándar. Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas entre los resultados ( $p < 0,001$ ).

#### 3.1.1 Humedad residual

Las tres variedades estudiadas muestran valores de humedad residual que difieren entre sí considerablemente, se evidencia que A posee una humedad residual mayor que B y S y sus diferencias estadísticas son significativas. Sin embargo, en todos los casos estos valores se encuentran dentro de los límites permisibles, es decir por debajo del



12% de acuerdo a la normativa NTE INEN 2392 (2017) correspondiente a hierbas aromáticas.

El porcentaje de humedad residual reportado se puede comparar con el obtenido por Sierra et al., (2013) en un estudio referente al aprovechamiento de la cascarilla de café, siendo sus resultados de 6,30% para cascarilla entera y 5,39% para cascarilla de café molida lo que coincide con las variedades A y S, por otro lado, B tuvo un porcentaje de humedad residual más bajo. Por su parte Cangussu et al., (2021) determinó un 5,50% de humedad residual en cascarillas de *C. arabica*. Sin embargo, existen reportes donde este parámetro puede ser más bajo llegando a un 0,015% de humedad residual en cascarilla recolectada en la región de Kholan bin Amer en condiciones de secado similares a las del presente estudio (Hanan et al., 2017), esto se puede atribuir a las condiciones de trabajo, en particular del método de desecación utilizado (Campo-Fernández et al., 2020).

### 3.1.2 Grasas

Con respecto al porcentaje de grasas presente en las tres muestras de *C. arabica* todas presentan valores similares entre sí, que van desde el 1,17 al 1,85 % como se observa en la Tabla 4. Estos resultados obtenidos contrastan con otros autores que determinaron desde 1,70% hasta un 5,78% de grasas en cascarillas de *C. arabica* (Cañas et al., 2020; Fierro et al., 2018; Machado et al., 2023) por lo que la única variedad que entra en dicho rango es B, aunque A y S no se aíslan en gran medida de 1,70%.

De la misma manera, los resultados se pueden comparar con los obtenidos por Panta y Palacios (2023) que estudiaron otras variedades de *C. arabica* como el Catucaí rojo y San salvador, cuyos porcentajes de grasas fueron 2,07 y 2,09 respectivamente. Finalmente (Cangussu et al., 2021) reportó un valor de 5,01% de grasas en cascarillas de *C. arabica*, de esta manera se puede afirmar que las variedades estudiadas en el presente trabajo de investigación mostraron un porcentaje de grasas menor al reportado para la misma especie en estudios anteriores.

### 3.1.3 Proteínas

En cuanto al porcentaje de proteínas, tanto la variedad A como S resultaron en valores similares de 9,44% y 9,31% respectivamente. Mientras que B tuvo un porcentaje mayor siendo del 14,13%. El contenido de proteínas de las variedades A y S se asemejan a

los obtenidos por Cañas et al., (2020) de 9,2%. Por su parte la variedad B resultó en un porcentaje similar al determinado por Prandi et al., (2021) que fue del 15,3%. Sin embargo, los valores obtenidos por distintos autores oscilan del 8,77% al 16,3% (Cangussu et al., 2021; Machado et al., 2023). Por lo que se puede afirmar que el contenido de proteínas resultante del estudio se asemeja en gran medida a los referidos en la literatura y se encuentran dentro del rango descrito.

#### 3.1.4 Cenizas totales

A pesar de que la normativa NTE INEN 1123 (2016) plantea que las cenizas totales en el café tostado en grano o molido no debería ser mayor al 5%, todas las variedades lo superaron ligeramente, siendo los valores obtenidos de 6,04; 6,22 y 6,33 para A, B y S, respectivamente. Los resultados del ensayo contrastan con el estudio de Cangussu et al., (2021) quien determinó un 5,20% de cenizas totales en su muestra de *C. arabica* lo que se aproxima al porcentaje planteado por la normativa, aunque algo superior. Por otro lado Machado et al., (2023), reportó un 7,86% de cenizas lo que representa un valor que incluso supera a los obtenidos en el presente estudio. De la misma manera, los resultados de Aguirre et al., (2018) que fueron del 10,19% al 10,67%, estuvieron muy por encima de lo que establece la normativa. No obstante, se debe tener en cuenta que dicho porcentaje se aplica al café tostado ya sea en grano o molido por lo que no representa el incumplimiento del parámetro al tratarse de cascarilla de café. Estos valores, dado que son elevados, sugieren la necesidad de descartar la presencia de metales pesados.

#### 3.1.5 Minerales

Los minerales estudiados en las tres variedades de *C. arabica* y sus resultados se detallan en la Tabla 5 donde se destaca B por su contenido de nitrógeno y zinc, en comparación a las otras variedades. Además, se asemeja al contenido de nitrógeno en materia seca obtenido por Veiga et al., (2017) que fue del 2,74% para cascarilla de café. En el caso del potasio, calcio, cobre y manganeso destaca la variedad S. Por su parte, A muestra un mayor contenido de hierro y sodio mientras que los demás minerales resultaron en valores similares para todas las variedades. Es posible comparar los resultados obtenidos con los de Palacios y Panta (2023) destacando que sus muestras de cascarillas de *C. arabica* fueron obtenidas de la misma región que las variedades A y S. Sus resultados fueron de 13,90 y 14,60 mg/g para nitrógeno en las variedades

Catucaí rojo y San salvador respectivamente, lo que se asemeja mucho a las variedades A y S, mientras que B supera dicho rango lo que se puede atribuir a una diferencia en las condiciones ambientales a la que se vio expuesta la materia vegetal. De la misma manera, en el caso del fósforo el valor obtenido fue muy cercano al del presente estudio en todas las variedades con 1,40 mg/g de este mineral.

Resulta interesante destacar que B fue la variedad que presentó una concentración mayor, tanto de minerales como proteínas, en comparación a las demás variedades y esto tiene su explicación en las diversas funciones que cumplen estos compuestos inorgánicos en la planta, como es el caso del magnesio que actúa como cofactor en el proceso de síntesis de aminoácidos y por consiguiente de proteínas. De la misma manera, el potasio es responsable de la activación enzimática para la síntesis proteica mientras que el nitrógeno es un componente esencial de los aminoácidos. Esto quiere decir que, la concentración de proteínas en la materia vegetal depende directamente de la cantidad de minerales presente y es por esto que la variedad mencionada presenta una mayor proporción en estos parámetros. (Morgan y Connolly, 2013)

De manera resumida, los resultados obtenidos de las variedades estudiadas por Palacios y Panta (2023) oscilaron 34,90 a 39,80 mg/g para potasio; 5,1-5,6 mg/g de calcio; 1,5-1,6 mg/g de magnesio; 0,01 mg/g de zinc y cobre; 0.10-0.14 mg/g de hierro; 0,03-0,04 mg/g de manganeso y 0,05-0,06 mg/g de sodio. Por lo antes planteado se puede afirmar que la concentración de minerales presentes en las variedades de *C. arabica* son muy similares entre sí. Además, al igual que en el estudio antes descrito, el mineral que se encontró en mayor cantidad fue el potasio con 33,70 mg/g en la variedad S, seguido por 29,70 mg/g en B y 27,00 mg/g en A.

Aguilar y Criollo (2023) estudiaron bajo condiciones similares la especie *C. arabica* variedad Catimor, constatando que el potasio continúa siendo el mineral encontrado en mayor proporción. Por otro lado, cabe destacar que la variedad B aunque también proviene del Cantón Zaruma, mostró concentraciones superiores en cada uno de los elementos inorgánicos, respecto a la variedad Catimor estudiada por Aguilar y Criollo (2023).

Los resultados del presente estudio y los descritos por otros autores demuestran que el potasio es el mineral predominante en las muestras de cascarilla, esto a su vez coincide con Janda et al., 2021 en un análisis de minerales a granos de café donde el potasio

nuevamente destacó con 18,63 mg/g de cascarilla por lo que se puede afirmar que este mineral suele estar elevado en esta especie vegetal.

**Tabla 5. Resultados de análisis foliar en las tres variedades de C. arabica.**

Mineral	Resultado según cada variedad (mg/g)		
	Acawa	Bourbon sidra	Sarchimor
N	15,10	22,60	14,90
P	1,30	1,40	1,30
K	27,00	29,40	33,70
Ca	3,40	3,90	4,20
Mg	1,10	1,10	1,20
Zn	0,01	0,02	0,01
Cu	0,01	0,01	0,02
Fe	0,17	0,12	0,14
Mn	0,04	0,05	0,04
Na	0,07	0,05	0,49

### 3.1.6 Fibras

Como se aprecia en la tabla 4 los valores de fibras fueron significativamente diferentes entre las variedades donde destacó S con un 60,2% seguido de A y B. Tales resultados son similares a los referidos por Bondesson (2015) donde recopila diversos autores quienes informan valores de fibras entre 24% - 43%. De la misma manera, se han reportado hasta 51,2% y 65,83% en porcentaje de fibra presente en cascarilla de C. arabica lo que se asemeja en gran medida a la variedad S estudiada (Cañas et al., 2020; Cangussu et al., 2021). Por su parte la variedad B con un 18,94% es comparable al

16,23% y 14,28% reportado por Londoño-Hernandez et al. (2020) y Romauli et al. (2023) respectivamente.

Resulta importante considerar que el contenido de fibra total guarda relación con el potencial de aprovechamiento de la cascarilla de café en el campo nutricional puesto que, es un componente esencial en la alimentación con una variedad de beneficios que van desde facilitar el tránsito intestinal, prevenir el estreñimiento y prolongar la sensación de saciedad al gelificar en el estómago, de esta manera se previenen diversas enfermedades asociadas al consumo excesivo de alimentos como la obesidad o problemas cardiovasculares (Slavin, 2005).

### **3.2 Rendimiento de la extracción**

Las tres variedades de *C. arabica* fueron sometidas a un mismo método y condiciones para la obtención de su extracto, como se detalla en el epígrafe 2.7 y el porcentaje correspondiente al rendimiento de la extracción para cada variedad fue de 22,89; 21,56 y 22,61 para A, B y S respectivamente. Por su parte, la variedad A fue la que presentó un mayor rendimiento seguida de S y finalmente B. Tanto el mensturo como el método permitieron obtener un porcentaje de extracción aceptable con base en lo descrito por Silva et al., (2021), quienes demostraron que la mezcla de etanol:agua proporciona los mejores resultados para la obtención de compuestos fenólicos, en comparación al uso de etanol y agua de manera individual como mensturos. De la misma manera Muñoz et al., (2015) demostró estadísticamente que el etanol es el disolvente responsable de un extracto con menor cantidad de compuestos bioactivos seguido por el agua, siendo la mezcla hidroalcohólica la que logró los mejores resultados.

En cuanto al método de extracción, se considera al baño ultrasónico como una excelente opción al momento de trabajar con drogas vegetales que en su composición presentan metabolitos sensibles a la temperatura y es uno de los métodos de primera elección en estudios fitoquímicos por sus múltiples ventajas. Sin embargo, en el caso específico de la extracción de cascarilla de café se ha demostrado que el baño maría presenta una mayor eficiencia tanto en el rendimiento como en la presencia de metabolitos especializados responsables de la actividad biológica (Silva et al., 2021). Pese a ello, se consideró elegir la extracción por sonicación por la eficiencia del método en relación a tiempo y rendimiento, así como el bajo consumo de disolventes, lo que contribuye favorablemente a la protección del medio ambiente (Hammell, 2022).

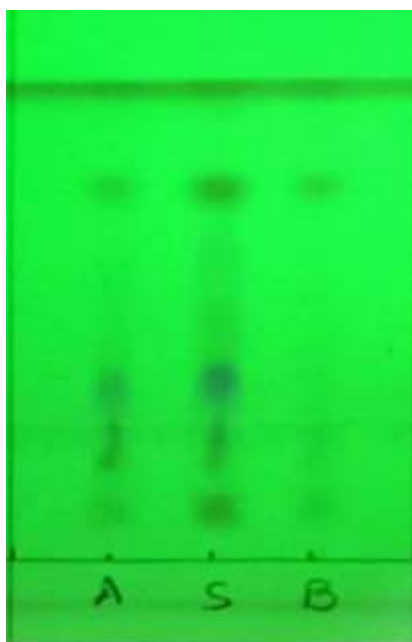
### 3.3 Análisis cromatográfico en capa delgada (CCD)

#### 3.3.1 Perfil cromatográfico con revelado físico

La CCD fue aplicada a las tres variedades estudiadas de *C. arabica* permitiendo la separación de diferentes compuestos y observación cualitativa de la composición química de las muestras, previo a un análisis cromatográfico más específico como la CLAE/EM. En la Ilustración 2 se puede observar el perfil cromatográfico de las muestras de cascarilla con reveladores físicos como luz UV a 254 nm y 365 nm. En primer lugar, se puede afirmar que todas las variedades presentan compuestos químicos con grupos cromóforos conjugados en su composición química, pues estos revelan con la luz UV. Se puede adicionar que, tanto la variedad A como S presentan perfiles muy similares entre sí, mientras que la variedad B sugiere presentarlos menos concentrados estos compuestos o no los tiene. Debe tenerse en cuenta que los extractos se elaboraron bajo las mismas condiciones (relación m/v y método de extracción), sin embargo, la aplicación, aunque fue similar, no fue exactamente medida.

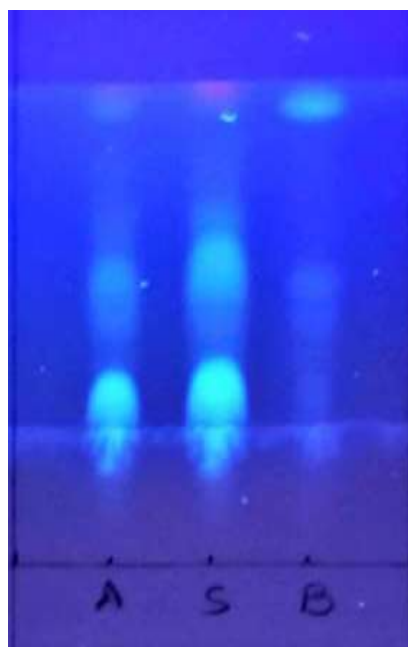
Haciendo un análisis más específico, con la luz UV a 254 nm como revelador físico, en todas las variedades se presenta una mancha a un Rf de 0,12 y 0,19. A pesar de que en la variedad B las manchas son más tenues siguen siendo evidentes y demuestran la presencia de compuestos con alta polaridad al estar más próximos a la fase estacionaria, demostrando su afinidad por la misma. Esto contrasta con los resultados obtenidos por Palacios y Panta (2023) donde el perfil cromatográfico de las cascarillas de *C. arabica* revelado con luz UV a 254 nm mostró además la presencia de compuestos en el punto de aplicación sugiriendo una mayor afinidad por la fase estacionaria y por consiguiente mayor polaridad, mientras que en el presente estudio no se presentaron compuestos retenidos en el punto de aplicación. Por otro lado, solo las variedades A y S muestran compuestos a Rf de 0,23; 0,48 y 0,77 siendo estos de menor polaridad y por consiguiente mayor afinidad con la fase móvil. Finalmente, todas las variedades mostraron una última mancha a un Rf de 0,93 lo que representa compuestos con menor afinidad por la fase estacionaria.

## Ilustración 2. Resultados de la CCD con revelación física UV FM: BAW 65:15:25.



Revelado: Luz UV a 254 nm

\*Leyenda: A: Acawa; S: Sarchimor; B: Bourbon sidra.



Revelado: Luz UV a 365 nm

Se puede observar un perfil similar con el revelador de luz UV a 365 nm donde las tres variedades presentaron manchas azul fluorescentes a Rf de 0,19 y 0,23. Es posible destacar dos manchas que no fueron visibles a 254 nm pero que se evidencian muy bien a 365 nm y estas se encuentran a Rf de 0,62 y 0,97 en las tres variedades resaltando un color violeta en la variedad S, aunque en B continúan siendo manchas tenues en comparación a las demás variedades. A manera de comparación, se puede mencionar lo descrito por Waksmundzka-Hajnos et al., (2008) quien afirma que ciertos ácidos fenólicos revelan su presencia con luz UV a 254 nm resultando en colores azul y violáceo, mientras que todos los flavonoides emiten fluorescencia a esta longitud de onda. Por otro lado, a 365 nm los flavonoides se caracterizar por mostrar colores verdes, amarillo oscuro y azul intenso.

### 3.3.2 Perfil cromatográfico con revelado químico

El perfil cromatográfico de las tres muestras de *C. arabica*, luego del revelado químico con diferentes reactivos, brinda una mayor información (Ilustración 3). En primer lugar, se observa que el revelado con  $\text{FeCl}_3$  mostró manchas en las muestras A y S a Rf de 0,23 y 0,38. Sin embargo, sólo la variedad S mostró una mancha de menor intensidad

a Rf de 0,85, mientras que B no reveló de manera apreciable la presencia de ningún compuesto. A partir de esto, es posible sugerir que A y S poseen compuestos fenólicos en concentraciones tales que se favorecen la reacción con FeCl<sub>3</sub>, a diferencia de B, quien podría no tener o poseer tales compuestos en bajas concentraciones. Estos resultados coinciden con lo reportado por Cangussu et al. (2021) quien afirmó que las cascarillas de café se pueden clasificar como un producto de alto contenido en compuestos fenólicos, resaltando la presencia del ácido clorogénico y ácido protocatéquico.

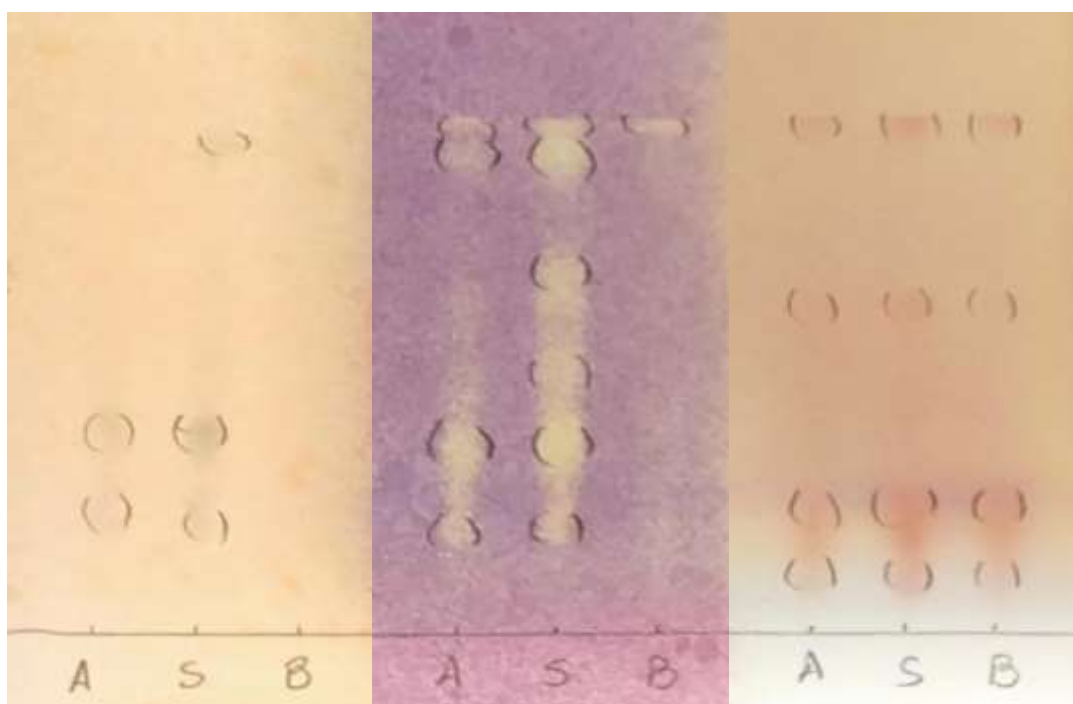
Por otro lado, las muestras se sometieron a revelado con DPPH para observar la capacidad antioxidante al decolorarse el morado a un amarillo, en aquellas zonas donde existen metabolitos con tal propiedad. Se puede observar que todas las muestras presentaron compuestos antioxidantes a diferentes Rf. Sin embargo, S fue la muestra que sugirió una mayor presencia de antioxidantes, sobre la base de la intensidad de la decoloración y número de manchas en comparación con las variedades restantes. Dicho comportamiento guarda relación con el revelado bajo la luz UV y con FeCl<sub>3</sub>, siendo esta muestra, S, la que exhibe las señales más intensas.

Al comparar los resultados obtenidos con lo establecido en la literatura por Lestari et al., (2022) en un estudio que plantea a los subproductos del café como una excelente fuente de antioxidantes, en el mismo estudio se reportó que la cascarilla de *C. arabica* tuvo una capacidad antioxidante del 84,95% por el método DPPH.

Con respecto al revelado con ninhidrina, se conoce que permite detectar aminoácidos y produce manchas de color violáceo. En las tres muestras se presentaron manchas con dichas características, por lo que se puede afirmar la presencia de aminoácidos en las tres variedades de *C. arabica*. Además, se debe destacar que los tres perfiles cromatográficos revelados son muy semejantes. Los resultados obtenidos son comparables al estudio de Hoseini et al., (2021) quien refiere porcentajes considerables de varios aminoácidos en la cascarilla de café, destacando la presencia de ácido glutámico, ácido aspártico, leucina, glicina, prolina, valina, alanina, entre otros.



**Ilustración 3. Resultados de la CCD para las tres variedades de *C. arabica* con reveladores químicos FM: BAW 65:15:25.**



Revelado: FeCl<sub>3</sub>

Revelado: DPPH

Revelado: Ninhidrina

\*Leyenda: A: Acawa; S: Sarchimor; B: Bourbon sidra.

Para la determinación cualitativa de cafeína mediante CCD, las tres muestras se aplicaron en la placa cromatográfica, conjuntamente con la cafeína, tal como se muestra en la Ilustración 4. Se pudo constatar que todas las variedades estudiadas en la presente investigación contienen cafeína, dado que el revelado UV a 254 nm mostró una mancha en cada variedad, con igual R<sub>f</sub> que el estándar de referencia. Esto coincide con lo reportado por Turck et al., (2022) donde se especifica que hay de 100-1000 mg de cafeína por cada gramo de cascarilla de *C. arabica*.

**Ilustración 4. Resultados de CCD para las tres variedades de *C. arabica* frente al estándar de cafeína.**



FM: acetato de etilo: ácido acético glacial.

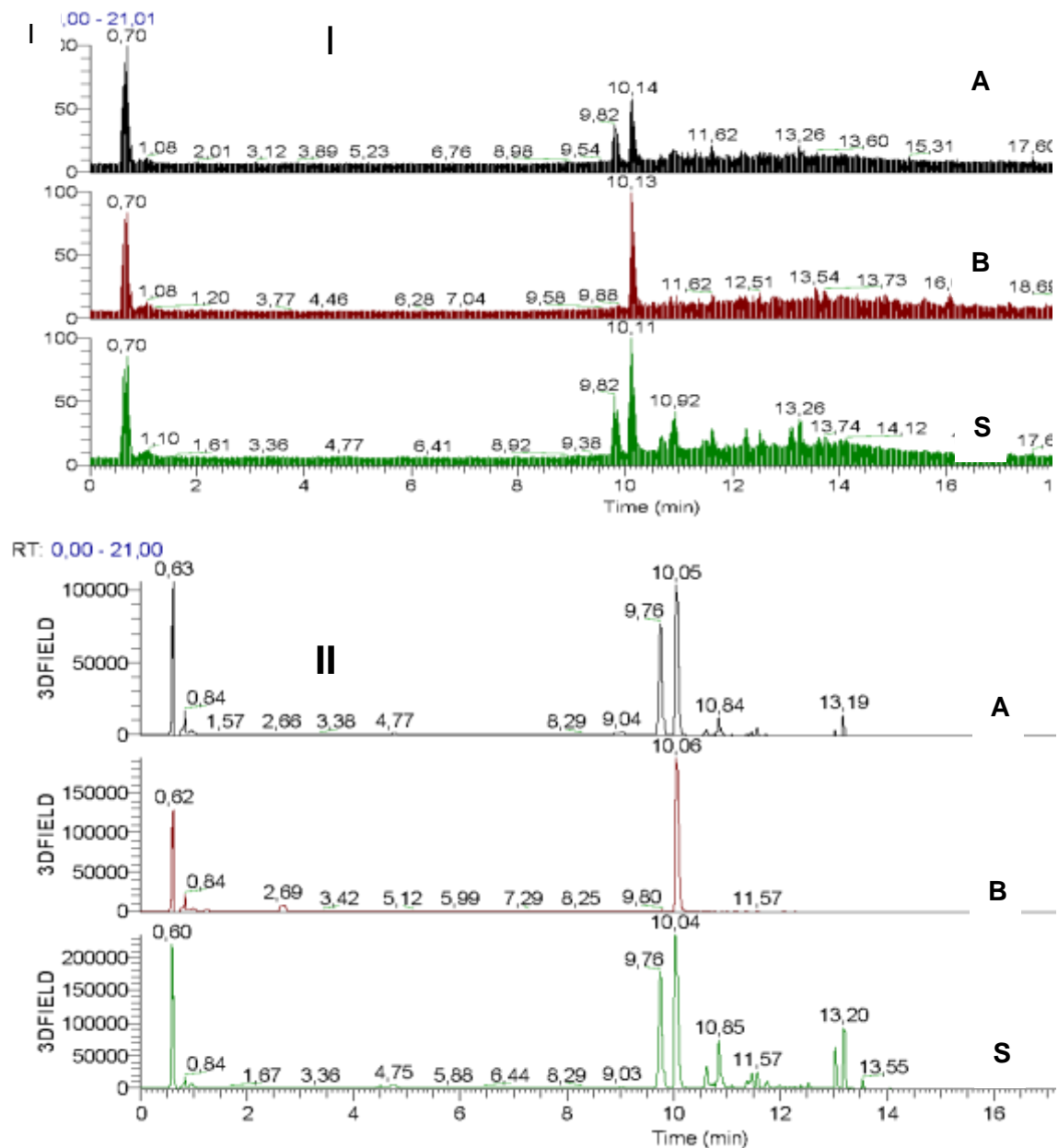
Revelado: Luz UV a 254 nm

\*Leyenda: A: Acawa; B: Bourbon sidra; S: Sarchimor; Caf: estándar de cafeína

### **3.4 Determinación de metabolitos mediante CLAE/EM**

El análisis para la determinación de metabolitos mediante CLAE/EM fue aplicado a las tres variedades de *C. arabica*, obteniéndose los cromatogramas de la Ilustración 5. La imagen I corresponde al cromatograma de la corriente iónica principal utilizando el detector de masas y el II se obtuvo mediante el detector de arreglo de diodos, este último justificado por la presencia de compuestos químicos con grupos cromóforos conjugados en su estructura, tal como refiere la literatura para extractos de cascarilla de café donde hay diversidad de metabolitos de naturaleza fenólica y cafeína (Cañas et al., 2022). Vale destacar que la variedad donde se observó mayor cantidad e intensidad de señales fue S, seguida de la variedad A.

**Ilustración 5. Cromatogramas de la corriente iónica principal (I) y con el detector de arreglo de diodos (II) de las muestras de C. arabica variedad Acawa (A), Bourbon Sidra (B) y Sarchimor (S)**



Cabe señalar que la identificación de los metabolitos tanto por el modo positivo como el negativo se realizó comparando los espectros de masas y los espectros UV obtenidos por otros investigadores para cascarilla de cacao de diversas variedades y utilizando similares condiciones de trabajo (CLAE/EM/ESI). La identificación más precisa se recomienda hacer con el uso de los correspondientes patrones de referencia.

En la Tabla 6 se observan todos los compuestos identificados en las tres variedades de *C. arabica*, analizando tanto el modo positivo como el negativo, así como los máximos de absorción bajo la luz UV. Los resultados coinciden con los referidos por diversos investigadores quienes han demostrado la existencia de compuestos de naturaleza fenólica y la cafeína como alcaloide mayoritario (Cangeloni et al., 2022).

La trigonelina, metabolito identificado con el menor tiempo de retención y en el modo positivo, es un alcaloide que se presenta en las tres variedades de cascarilla de café. Cangeloni et al., (2022) refieren la presencia de dicho metabolito a través de su ion  $[M+H]^+$  de  $m/z$  138 y un pico base en su  $MS^2$  (+) de  $m/z$  121, lo que coincide con los fragmentos encontrados en el presente estudio (Anexo 1). Estudios recientes han sugerido para dicho alcaloide propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y beneficios como hipoglicemiante (Smith et al., 2023).

Por su parte los ácidos clorogénicos se describen como los productos resultantes de la esterificación del ácido quínico con el ácido caféico, siendo el más abundante en las cascarillas de café, el ácido 5-cafeoilquínico (Chavez y Esquivel, 2019). La presencia del ácido quínico y del cafeico se pudo constatar tras el análisis de los espectros de masas que se presentan en los anexos 2 y 3, respectivamente, sin embargo, el anexo 4, sugiere la presencia del ácido 5-cafeoilquínico o su isómero el ácido 3-cafeoilquínico, resultados que sólo podrían ser esclarecidos mediante el empleo del estándar de referencia apropiado de uno de los metabolitos. A excepción del ácido quínico, el que se constató en las tres matrices vegetales, los dos restantes al igual que el ácido di-cafeoilquínico, el ácido 4-cafeoilquínico y uno de los dímeros del ácido cafeoilquínico (Anexos 5, 6 y 7, respectivamente) sólo se detectaron en la variedad S y en el modo negativo. Estos metabolitos se asocian con efectos antioxidantes, anticancerígenos, antibacterianos, antivirales, hipoglicemiantes, nutracéuticos, hepatoprotectores, entre otros (Chaves y Esquivel, 2019; Pacheco et al., 2018).

En cuanto a la cafeína, solo fue identificada en el modo positivo (Anexo 8) y se define como un alcaloide perteneciente al grupo de bases purínicas, al que se atribuyen propiedades estimulantes, analgésicas, antioxidantes y diuréticas (Pacheco et al., 2018). Adicionalmente, se menciona que su consumo está relacionado con el efecto antiinflamatorio y ergogénico debido a un mayor uso de sustratos, el retraso de fatiga y estado de alerta (Barcelos et al., 2020).

**Tabla 6. Metabolitos determinados mediante CLAE/EM**

Compuesto	TR (min)	$\lambda_{\max}$ (nm)	[M-H] <sup>-</sup> (m/z)	MS <sup>2</sup> (-) (m/z)	[M+H] <sup>+</sup> (m/z)	MS <sup>2</sup> (+) (m/z)	Referencia
Trigonelina (A, B, S)	0,78	-	-	-	138	138, <b>121</b> , 110, 95, 80, 56	(Cangeloni et al., 2022; Mohamadi et al., 2020)
Dímero de uno de los isómeros del ácido cafeoilquínico (S)	9,83	326	707	<b>353</b> , <b>191</b>	-	-	(Aguilar y Criollo, 2023; Palacios y Panta, 2023)
Ácido quínico (A, B, S)	9,90	-	191	173, <b>127</b> , 111, 93	-	-	(Cangeloni et al., 2022); (Palacios y Panta, 2023)
Ácido-4-cafeoilquínico (S)	10,14	323	353	191, 179, <b>173</b> , 135	-	-	(Cangeloni et al., 2022; Piovesana et al., 2019)
Procianidina B (A, S)	10,72	-	577	<b>425</b> , 407, 289	579	<b>427</b> , 409, 291	(Wong et al., 2021); (Rebollo et al., 2021); (Cangeloni et al., 2022); (Palacios y Panta, 2023)
Catequina/Epicatequina (A, S)	10,92	-	289	271, <b>245</b> , 227, 205, 203, 179, 161	291	273, 165, 139, <b>123</b>	(Cangeloni et al., 2022) (Palacios y Panta, 2023)
Mangiferina (A, S)	10,99	-	421	403, 331, <b>301</b>	423	<b>405</b> , 303	(Cangeloni et al., 2022)
Cafeína (A, B, S)	10,13	275	-	-	195	195, 176, <b>138</b> , 110, 85	(Cangeloni et al., 2022)

Trímero de procianidina tipo A (A, S)	11,46	-	863	<b>711</b> , 573, 451, 411	865	713, <b>533</b>	(Wong et al., 2021); (Cangeloni et al., 2022)
Procianidina C (S)	11,60	-	865	847, 739, <b>695</b> , 577	-	-	(Wong et al., 2021); (Cangeloni et al., 2022)
Quercetina-3-O-rutinósido (A, B, S)	12,34	-	609	<b>301</b>	611	<b>303</b>	(Cañas et al., 2022); (Piovesana et al., 2019); (Cangeloni et al., 2022); (Palacios y Panta, 2023)
Catequina/Epicatequina (A, S)	12,63	-	289	271, <b>245</b> , 227, 205, 203, 179, 161	291	273, 165, 139, <b>123</b>	(Cangeloni et al., 2022) (Palacios y Panta, 2023)
Ácido cafeoilquínico (S)	13,12	327	515	<b>353</b> , 335, 191, 179, 173	-	-	(Cañas et al., 2022); (Aguilar y Criollo, 2023); (Palacios y Panta, 2023)
Ácido-5-cafeoilquínico/ Ácido-3-cafeoilquínico (S)	13,27	327	353	<b>191</b> , 179, 173, 161, 135	-	-	(Piovesana et al., 2019); (Cañas et al., 2022); (Cangeloni et al., 2022); (Palacios y Panta, 2023)
Ácido cafeico (S)	13,62		179	<b>135</b>	-	-	(Rebollo et al., 2021)
*Leyenda: A: Acawa; B: Bourbon sidra; S: Sarchimor.							

Cabe mencionar además la presencia de las procianidinas encontradas en las variedades A y S siendo la procianidina B y C (Anexo 9) y el trímero de procianidina tipo A (Anexo 10). Se trata de compuestos polifenólicos constituidos por unidades de polihidroxi flavan-3-ol, en los que resalta la actividad antioxidante y está presente en muchos alimentos y residuos agroindustriales como la cascarilla de café, sin embargo se debe vigilar cuidadosamente el proceso de extracción para garantizar su estabilidad (Cangeloni et al., 2022; Rebollo et al., 2021; Vázquez et al., 2023; Wong et al., 2021).

Colateralmente se identificó a dos tiempos de retención diferentes la presencia de dos moléculas, las que podrían ser catequina y epicatequina indistintamente (Anexo 11). Tales metabolitos presentan el mismo patrón de fragmentación. También se sugiere la existencia de rutina (Anexo 12); todos ellos corresponden a la familia de los flavonoides, en los que destaca su actividad antioxidante (del Gaudio et al., 2021; Domínguez y Tejera, 2023). Ambos metabolitos pudieron identificarse tanto en el modo negativo como en el positivo. Algo similar sucedió con la mangiferina (Anexo 13), la que ha sido reconocida como un compuesto bioactivo de interés por su efecto hipoglucemiante, pero con limitaciones de solubilidad en agua ya que guarda mayor afinidad con las grasas y tiene una baja biodisponibilidad (Wang et al., 2022).

### 3.5 Cuantificación de metabolitos

El contenido de taninos y de fenoles totales equivalentes a ácido gálico determinado para las tres variedades de *C. arabica* se observa en la Tabla 7 y se realizó mediante la curva de calibración con ácido gálico que se muestra en el Anexo 14. El análisis de regresión lineal permitió la obtención de la Ecuación 7 demostrando una correlación lineal positiva con un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 0,9997. Los resultados permiten constatar que las variedades A y S presentan una concentración de tales metabolitos significativamente superior a la B.

$$Absorbancia = 1,0106 \times Conc. \left(\frac{mg}{mL}\right) + 0,0195 \quad (7)$$

**Tabla 7. Cuantificación de fenoles totales, taninos y cafeína.**

Metabolitos	Variedad de <i>C. arabica</i>		
	Acawa Media ± S	Bourbon Sidra Media ± S	Sarchimor Media ± S
Fenoles totales [EAG (mg/g)]	21,46 ± 0,88 <sup>a</sup>	5,00 ± 0,30 <sup>b</sup>	22,24 ± 0,51 <sup>a</sup>
Taninos (mg/g)	8,21 ± 0,49 <sup>a</sup>	2,01 ± 0,27 <sup>b</sup>	10,64 ± 0,81 <sup>c</sup>
Cafeína (mg/g)	4,71 ± 0,19 <sup>a</sup>	2,73 ± 0,25 <sup>b</sup>	4,53 ± 0,17 <sup>a</sup>

S= desviación estándar. Letras diferentes en misma fila indican diferencias significativas entre los resultados ( $p < 0,001$ ).

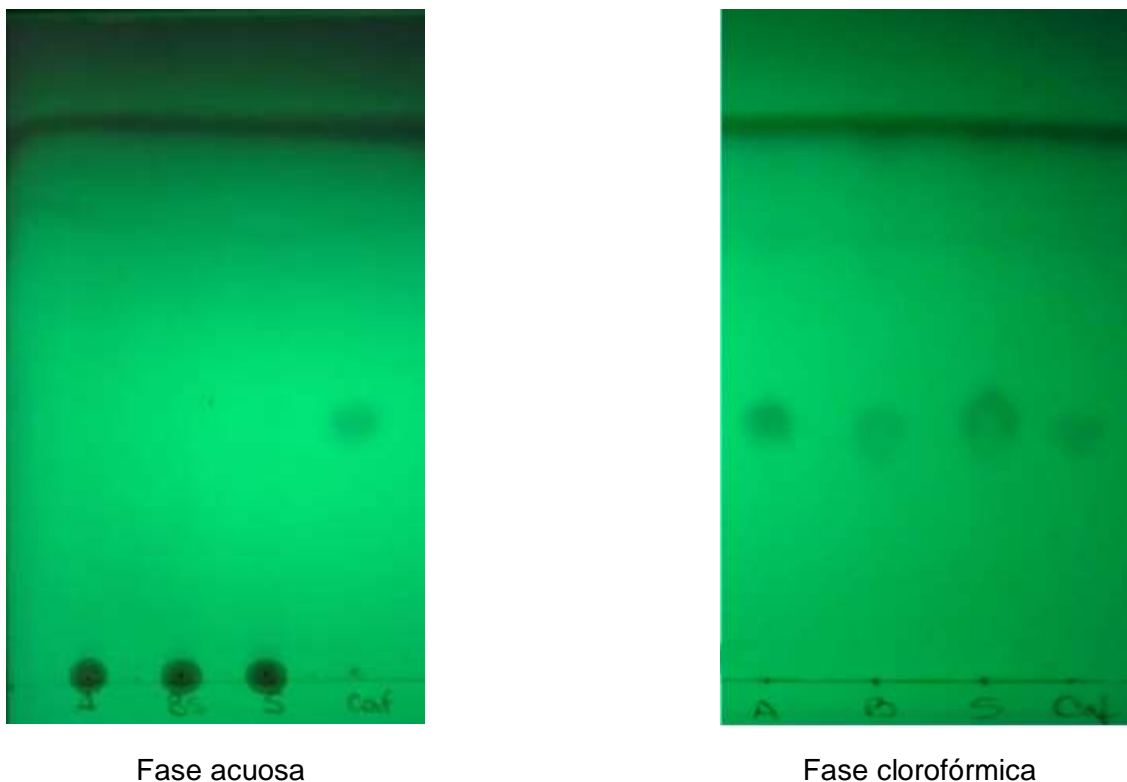
Resultados publicados por Aguilar y Criollo (2023) mostraron niveles inferiores de compuestos fenólicos, a los obtenidos en la presente investigación, siendo de 10,06 mg EAG/g en cascarillas y 3,55 mg/g en el caso de los taninos, ambos presentes en cascarilla de *C. arabica* variedad Catimor. Por otro lado, Neves et al., (2019) determinó valores de 3,83-4,55 mg EAG/g de cascarilla de *C. arabica*, mientras que en el caso de los taninos refiere valores entre 1,15-2,12 mg/100 g, siendo estos menores a los obtenidos en la presente investigación. Ribeiro et al., (2019) afirmó en su análisis para cascarillas de *C. arabica*, que la más alta concentración de compuestos fenólicos obtenida en su investigación fue de 9,93 mg EAG/g para un extracto hidroalcohólico al 40% v/v. Finalmente, Panta y Palacios (2023) determinaron 8,88 y 9,21 mg EAG/g en el caso de fenoles totales y en el caso de taninos 3,96 y 4,36 mg/g para las variedades San Salvador y Catucaí Rojo, respectivamente.

La variabilidad en los niveles de dichos metabolitos secundarios, entre los estudios referidos por los diferentes autores para la cascarilla de café, puede atribuirse a una combinación de factores intrínsecos de la planta (variedad de café, madurez del fruto), técnicas de procesamiento (proceso para la obtención de la cascarilla, secado de la materia prima, condiciones de extracción) y condiciones ambientales (cultivo, estrés biótico y abiótico). Comprender y controlar estos factores permite optimizar la extracción de dichos compuestos bioactivos, los cuales tienen aplicaciones importantes en la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética (Haminiuk et al., 2012; Rodríguez et al., 2012; Vergara-Salinas et al., 2015).



Previo a la cuantificación de cafeína se realizó un proceso de fraccionamiento y purificación. Se pudo demostrar cualitativamente en la Ilustración 8, correspondiente a la fase clorofórmica, que en la fracción objeto de análisis, sólo existe, bajo esas condiciones cromatográficas, una sola mancha por cada muestra, la que coincide con el patrón de cafeína. En la fase acuosa, no se apreció ninguna señal que evidenciara la presencia de dicha xantina.

**Ilustración 6. Resultados de la CCD para fase acuosa y clorofórmica utilizando como FM: acetato de etilo: ácido acético glacial y como revelador luz UV a 254 nm**



Leyenda: A: Acawa; Bs y B: Bourbon sidra; S: Sarchimor; Caf: Estándar de cafeína.

Con el objetivo de cuantificar la cafeína presente en las muestras vegetales se tomó como base la curva de calibración detallada en el Anexo 15, con la que se obtuvo la Ecuación 8. El análisis de regresión lineal demostró una correlación lineal positiva con  $R^2$  de 0,9983. En la Tabla 7 se puede apreciar la cuantificación realizada, donde las variedades A y S también presentan niveles significativamente superiores a la variedad Bourbon Sidra.

$$Absorbancia = 0,0499 \times Conc. \left(\frac{mg}{ml}\right) - 0,0048 \quad (8)$$

Estos resultados son similares a los reportados por Cangussu et al., (2021) quien determinó el rango para cafeína entre 4,18-6,96 mg/g en cascarilla de café, lo que se asemeja a las variedades A y S. De la misma manera Panta y Palacios (2023) obtuvieron 3,87 y 6,41 mg/g de cascarilla en las variedades San Salvador y Catucaí rojo, respectivamente. La única variedad que reportó un valor de cafeína que se encuentra fuera del rango planteado por la literatura consultada es B. La concentración de cafeína resultante del presente estudio se puede comparar además con los resultados reportados por Aguilar y Criollo (2023) donde, bajo las mismas condiciones, se obtuvieron 4,82 mg/g de cascarilla *C. arabica* en la variedad Catimor por lo que este resultado resulta muy cercano a los determinados en las variedades objeto de estudio.

### 3.6 Determinación de la capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante por el método DPPH de las tres muestras se determinó con la ayuda de la curva de calibración elaborada con trolox (Anexo 16), la que mostró un coeficiente de determinación  $R^2$  de 0,9941, por lo antes planteado es que a partir de la Ecuación 9 se puede calcular los mg equivalentes a trolox por cada gramo de cascarilla de café.

$$Absorbancia = 431,23 \times Conc. \left(\frac{mg}{mL}\right) - 0,6842 \quad (9)$$

De la misma manera, para la determinación de antioxidantes, por el método FRAP en las disoluciones, se utilizó un patrón con trolox como se observa en el Anexo 17 donde el estudio de la regresión lineal demostró la existencia de una correlación entre la concentración de trolox y el porcentaje de inhibición con un  $R^2$  de 0,9933, resultando en la Ecuación 10, misma que se empleó para el cálculo de los mg equivalentes a trolox/g de cascarilla.

$$Absorbancia = 5,2994 \times Conc. \left(\frac{mg}{mL}\right) - 0,0364 \quad (10)$$

Los resultados cuantitativos obtenidos para la capacidad antioxidante se detallan en la Tabla 8. En concordancia con los resultados anteriores las variedades A y S también presentan la mayor capacidad secuestradora de radicales libres (DPPH), siendo esta última la mejor para dicha propiedad con 16,44 mg TEAC/g de cascarilla, aunque no difiere estadísticamente de la variedad A (15,93 mg TEAC/g). Similar comportamiento se pudo apreciar para el método FRAP, donde la variedad S resultó significativamente mejor que la A, con valores de 14,75 mg TEAC/g y 11,33 mg TEAC/g, respectivamente.

**Tabla 8. Determinación de la capacidad antioxidante por los métodos DPPH y FRAP.**

Método	Resultados según la variedad (mg TEAC en 1 g)		
	Acawa Media ± S	Bourbon sidra Media ± S	Sarchimor Media ± S
TEAC-(DPPH)	15,93 ± 0,37 <sup>a</sup>	3,03 ± 0,16 <sup>b</sup>	16,44 ± 0,17 <sup>a</sup>
TEAC-(FRAP)	11,33 ± 0,15 <sup>a</sup>	4,31 ± 0,39 <sup>b</sup>	14,90 ± 0,37 <sup>c</sup>

S= desviación estándar. Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas entre los resultados ( $p < 0,001$ ).

Bajo las mismas condiciones de trabajo Palacios y Panta (2023), determinaron la capacidad antioxidante por ambos mecanismos. Para el método del DPPH los resultados obtenidos con las variedades Catucaí rojo y San salvador fueron 13,56 y 10,38 mg TEAC/g de materia prima, respectivamente; mientras que en el ensayo de FRAP los resultados obtenidos fueron de 7,81 y 5,08 mg TEAC/g de cascarilla, respectivamente. Cabe señalar que tales variedades proceden de la misma zona geográfica y fueron recibidas del mismo caficultor, por lo que el procesamiento del fruto para la obtención de la cascarilla, así como las condiciones del suelo no deben haber influido de manera apreciable. Lo factible de comparar con la investigación de Palacios y Panta (2023) es que las muestras de cascarillas entregadas, fueron procesadas bajo condiciones similares y los métodos de estudios utilizados fueron los mismos.

La capacidad antioxidante de la cascarilla de café, medida mediante los métodos DPPH y FRAP, puede variar notablemente entre diferentes variedades de café, debido a una combinación de factores tales como: la composición química intrínseca del material vegetal, donde usualmente, mayor concentración de compuestos fenólicos puede resultar en una mayor capacidad antioxidante. Otro de los factores asociados podría ser las condiciones de cultivo. El estrés causado por factores bióticos como la contaminación por patógenos, puede inducir la producción de compuestos antioxidantes como mecanismo de defensa en la planta de café. Este fenómeno puede variar entre diferentes variedades dependiendo de su resistencia natural y adaptabilidad al estrés. Otro elemento a considerar podría ser el método de procesamiento utilizado para obtener los extractos de cascarilla de café. Diferentes técnicas extractivas y condiciones de procesamiento (temperatura, tiempo) pueden afectar la eficiencia de extracción de estos compuestos (Joët et al., 2010; Louarn et al., 2001; Mussatto et al., 2011).

### 3.7 Correlación entre compuestos fenólicos y actividad antioxidante

Para la determinación de la correlación entre los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante, se realizó una matriz de correlación, la que se muestra en la Tabla 9.

Las correlaciones positivas más fuertes se pueden apreciar entre el contenido de fenoles totales y la capacidad secuestradora del radical DPPH y entre la cantidad de taninos y la capacidad reductora del hierro férrico a ferroso. Tales resultados han sido referidos por diversos autores quienes argumentan que los compuestos polifenólicos como los taninos, ácidos fenólicos y flavonoides son los principales responsables de la capacidad antioxidante en las plantas (Mestanza et al., 2023). Se ha observado que a medida que aumenta la concentración de estos compuestos fenólicos, generalmente se incrementa la capacidad antioxidante medida por métodos como el DPPH y el FRAP (Aguilar y Criollo, 2023; Palacios y Panta, 2023).

**Tabla 9. Matriz de correlación entre fenoles, taninos y actividad antioxidante**

	TANINOS	DPPH	FRAP	FENOLES TOTALES
TANINOS	—			
DPPH	0.786 *	—		
FRAP	0.954 ***	0.941 ***	—	
FENOLES TOTALES	0.779 *	0.972 ***	0.906 ***	—

*Nota.* \*  $p < .05$ , \*\*  $p < .01$ , \*\*\*  $p < .001$

Esta correlación entre la proporción de compuestos fenólicos y actividad antioxidante ha sido descrita por diversos autores. Iniciando con Lillo et al., (2016) quien demostró con el coeficiente de Pearson una relación positiva entre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante por el método DPPH y ABTS. Bajo las mismas condiciones de la presente investigación, Aguilar y Criollo (2023) detallaron correlaciones positivas fuertes entre fenoles totales, taninos, DPPH y FRAP. Sin embargo, su mayor correlación se estableció entre los métodos DPPH y FRAP con un coeficiente de Pearson muy cercano a 1 (0,9980) mientras que en el presente trabajo investigativo se observó una mayor correlación entre fenoles totales y DPPH (0,972).

Por su parte, Palacios y Panta (2023) mostraron la mayor correlación positiva fuerte entre taninos y actividad antioxidante por DPPH con un coeficiente de Pearson de 0,9850. Si bien es cierto que, los resultados obtenidos en las pruebas de correlación para compuestos fenólicos y actividad antioxidante muestran el mayor coeficiente de Pearson en diferentes relaciones descritas en la literatura, no se puede afirmar que carezcan de similitud con la presente investigación puesto que, al igual que los resultados reportados por Aguilar y Criollo (2023); Palacios y Panta (2023) en todas las relaciones establecidas se muestra una correlación positiva fuerte con coeficientes de Pearson cercanos a 1.

Se puede constatar también una correlación positiva fuerte y significativa entre ambas técnicas analíticas (DPPH y FRAP) con una confiabilidad superior al 95%. Lo anterior se explica por sus mecanismos de medición complementarios, su capacidad para detectar una amplia gama de antioxidantes y su utilidad en muestras complejas, por lo cual los convierte en herramientas valiosas para la investigación y evaluación de la actividad antioxidante en diversas matrices vegetales. Resultados similares han sido descritos por otros investigadores, al evaluar la capacidad antioxidante de extractos de plantas por métodos similares (Wong et al., 2006).

### **3.8 Ensayo hipoglucemiante *in vivo***

Los niveles de glucosa basal cuantificados en el tiempo se visualizan en la Tabla 10 donde se presenta la concentración de glucosa previo al ensayo para cada grupo ( $T_0$ ), y las mediciones consecutivas realizadas hasta completar 2 horas de estudio experimental *in vivo*.

El ensayo se realizó con la cascarilla de *C. arabica* variedad S, considerando que fue la materia prima que en sentido general mostró los mejores resultados cualitativos y cuantitativos.

Se debe tener en cuenta que existieron diferencias significativas entre los 4 grupos para el nivel de glucosa  $T_0$ , esto quiere decir que, se partió de una glucosa inicial diferente en cada grupo siendo el II y IV los que presentaron niveles de glucosa  $T_0$  más elevados. Debido a la falta de homogeneidad para dicho parámetro, se decidió agrupar los animales bajo este criterio y no por su peso corporal.

**Tabla 10. Niveles de glucosa en sangre en el tiempo.**

Grupo	Glucosa en sangre (mg/dL) Media $\pm$ S			
	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>
I Blanco	106 $\pm$ 4,38 <sup>a1</sup>	110 $\pm$ 2,17 <sup>a1</sup>	98,2 $\pm$ 4,76 <sup>a1</sup>	91,8 $\pm$ 2,68 <sup>a1</sup>
II Control negativo	148 $\pm$ 3,58 <sup>b1</sup>	386 $\pm$ 3,77 <sup>b2</sup>	279 $\pm$ 3,32 <sup>b3</sup>	119 $\pm$ 3,11 <sup>b4</sup>
III Control positivo	120 $\pm$ 5,73 <sup>c1</sup>	282 $\pm$ 3,91 <sup>c2</sup>	89 $\pm$ 4,18 <sup>c3</sup>	64,4 $\pm$ 3,78 <sup>c4</sup>
IV Cascarilla de café	132 $\pm$ 4,42 <sup>d1</sup>	348 $\pm$ 4,16 <sup>d2</sup>	250 $\pm$ 3,56 <sup>d3</sup>	92,8 $\pm$ 3,56 <sup>a4</sup>

S= desviación estándar. Letras diferentes en una misma columna/Números diferentes en una misma fila indican diferencias significativas entre los grupos. ( $p < 0,001$ ).

Las mediciones T<sub>1</sub> y T<sub>2</sub>, dentro de un mismo grupo, mantuvieron los niveles de glucosa estadísticamente diferentes. Se puede apreciar que todos los grupos, a excepción del blanco, luego de 30 minutos (T<sub>1</sub>) presentaron un aumento apreciable en los niveles de glucosa basal, valores que se constatan inferiores una vez transcurrida la hora de experimentación (T<sub>2</sub>), sobre todo, para el control positivo (III). Finalmente, en la medición T<sub>3</sub> la glucosa basal fue significativamente menor a las mediciones anteriores en todos los grupos, a excepción del I.

Cabe señalar que el grupo III mostró una hipoglucemia moderada en los sujetos de experimentación, tomando en consideración que los valores normales de glucosa en ratones albinos son de 70-140 mg/dL en ayunas y hasta 200 mg/dL aleatoria (Adamu et al., 2017). La glibenclamida al ser un antidiabético oral tiene un mecanismo de acción distinto a la fibra vegetal y su efecto es eficaz para controlar los niveles de glucosa basal. Sin embargo, se puede corroborar con lo descrito por la Agencia Española de Medicamentos y Productos sanitarios (AEMPS) en su centro de información de medicamentos autorizados que, la glibenclamida en su ficha técnica tiene como uno de los efectos adversos reportados la hipoglucemia, por lo que esta disminución de glucosa responde a un efecto adverso al medicamento por parte del organismo. Por otro lado, el

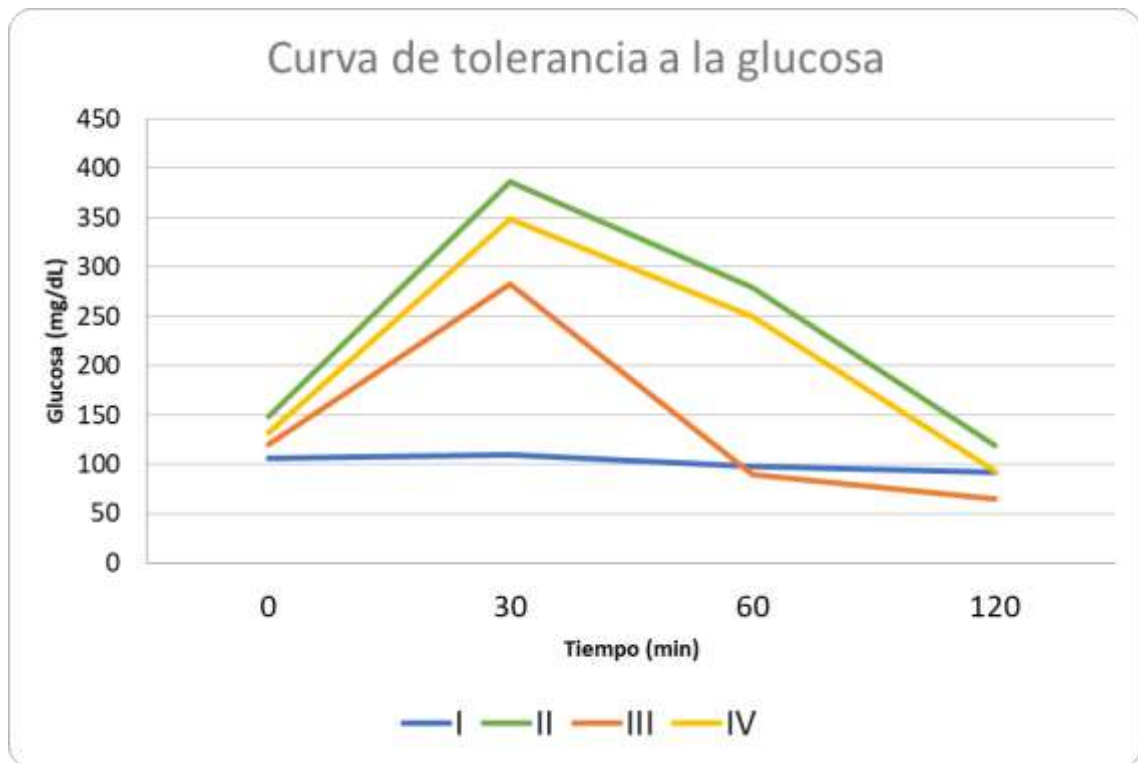
grupo tratado con cascarilla de *C. arabica* (IV) aunque mostró una capacidad hipoglucemiante, significativamente mayor que el control negativo (II), fue inferior al control positivo (III), con la ventaja de no llegar a provocar la hipoglucemia en los sujetos de experimentación.

Vale señalar que la administración de la droga presentó algunos inconvenientes, lo cual debe ser analizado para ensayos posteriores, conjuntamente con el estudio de varias dosis por administración. Se recomienda micronizar más la droga cruda y lograr una forma más efectiva de administrar la suspensión, garantizando el ingreso total del material vegetal.

Es necesario añadir que, el uso de una fibra vegetal comercial como control positivo, permitiría una comparación más certera sobre la base de su modo de acción. El mecanismo de acción hipoglucemiante de las fibras dietéticas está relacionado, principalmente, con su capacidad para retardar la digestión y absorción de carbohidratos, especialmente los carbohidratos simples como la glucosa. Dicho efecto tiene un impacto directo en la respuesta glucémica postprandial, es decir, en los niveles de glucosa en sangre después de las comidas. Las fibras dietéticas, especialmente las solubles como el beta-glucano, pectinas y gomas, forman geles viscosos en presencia de líquido en el tracto gastrointestinal. Dichos geles disminuyen la digestión de los carbohidratos al retardar su transformación a monosacáridos simples (Slavin, 2005).

El efecto hipoglucemiante se puede interpretar de mejor manera al observar la Ilustración 7, donde se detallan gráficamente estas variaciones de glucosa basal en los grupos a lo largo del tiempo. En todos los grupos se puede apreciar un aumento gradual de glucosa hasta los 30 minutos con un descenso significativo en todos, excepto en el I. Con relación al grupo III, se observa una menor elevación de glucosa así como una disminución más pronunciada en comparación a los demás grupos, esto se debe al mecanismo hipoglucemiante de la glibenclamida que, posterior a su absorción, actúa directamente sobre los receptores acoplados a canales iónicos, estimulando la secreción de insulina en el páncreas para controlar los niveles de glucosa (Campos et al., 2023). En contraste, el grupo IV mostró niveles de glucosa significativamente mayores al grupo II, esta diferencia radica en el mecanismo por el que actúan las fibras presentes en materias vegetales, las que requieren un proceso inicial de hinchamiento previo a su efecto terapéutico, lo que resulta en una diferencia considerable frente a los antidiabéticos orales como la glibenclamida (Ramírez, 2012).

**Ilustración 7. Curva de glucosa en los grupos experimentales.**



\*Leyenda: I: Grupo I (blanco); II: Grupo II (control negativo); III: Grupo III (control positivo); IV: Grupo IV (tratamiento con cascarilla de café).

Los resultados obtenidos se pueden comparar con los descritos por Hernández (2007), quien estudió el efecto hipoglucemiante resultante de la administración del bagazo de naranja en ratas con diabetes inducida. Los resultados constataron la efectividad del producto natural para controlar la absorción de glucosa basal. Por otro lado, Cañas et al., (2020) realizó un estudio *in vitro* para medir la absorción de glucosa en pulpa de café, concluyendo que este subproducto fue capaz de disminuir la difusión de glucosa en comparación al control. Esto permite afirmar que, a pesar de no existir muchos estudios referentes al efecto hipoglucemiante de las fibras presentes en la cascarilla de café, los resultados alientan a continuar las investigaciones para validar su aprovechamiento como suplemento o fitomedicamento.

Contar con un fitomedicamento que posea capacidad antioxidante y también efecto hipoglucemiante representa una ventaja significativa en el tratamiento y manejo de patologías como la diabetes y otras enfermedades metabólicas. Los antioxidantes ayudan a proteger al cuerpo contra el estrés oxidativo, un proceso que puede contribuir



al desarrollo de diversas enfermedades ya sea metabólicas, cardiovasculares, entre otras. Colateralmente, pueden reducirse los daños causados por los radicales libres, mejorando así la salud celular y reduciendo el riesgo de complicaciones asociadas con el estrés oxidativo. Por otra parte, los agentes hipoglucemiantes ayudan a controlar los niveles de azúcar en sangre, lo cual es crucial para pacientes con diabetes tipo 2 y otras condiciones relacionadas con la resistencia a la insulina. La combinación de propiedades antioxidantes e hipoglucemiantes puede ofrecer beneficios sinérgicos, potenciando el efecto protector sobre los tejidos y órganos afectados por la diabetes y otras patologías de gran incidencia en la actualidad. La reducción del estrés oxidativo puede mejorar la función vascular, reduciendo el riesgo de complicaciones vasculares asociadas con la diabetes, como la neuropatía. (Erejuwa et al., 2014; Olaokun et al., 2013; Roohbakhsh et al., 2015)

## CONCLUSIONES

El análisis bromatológico realizado en las tres variedades de cascarilla de café constató que todos los parámetros determinados guardan relación con los resultados referidos por otros autores, evidenciándose el posible valor nutricional y la calidad de las materias primas evaluadas.

El análisis por CCD permitió constatar que las variedades A y S poseen perfiles cromatográficos cualitativamente similares, evidenciándose, a diferencia de la B, la presencia de compuestos químicos que presentan grupos cromóforos conjugados, metabolitos fenólicos y colateralmente capacidad antioxidante. La identificación de aminoácidos y cafeína mostró un perfil más homogéneo para las tres muestras.

El análisis cromatográfico desarrollado mediante CLAE/EM sugirió la presencia de cafeína y metabolitos fenólicos en las tres variedades, siendo más nítidos en A y S. Los métodos espectrofotométricos confirmaron que A y S presentaron los mayores valores de fenoles totales, taninos y cafeína.

Las variedades S y A destacaron en capacidad antioxidante por ambos mecanismos de acción, correlacionado con sus niveles de compuestos fenólicos. El ensayo preliminar de la capacidad hipoglucemiante de la variedad S mostró una reducción significativa de los niveles de glucosa basal, aunque no comparable con la glibenclamida.

Las cascarillas de café analizadas pueden ser consideradas como materias primas de interés en la industria farmacéutica o alimentaria, aprovechando el efecto sinérgico que brinda su capacidad antioxidante atribuida fundamentalmente a los compuestos fenólicos que presenta y su actividad hipoglucemiante asociada al contenido de fibra total.

## RECOMENDACIONES

Descartar concentraciones elevadas de metales pesados en las tres variedades de cascarillas, según la norma INEN.

Realizar los controles microbiológicos necesarios para garantizar el consumo humano de tales residuos agrícolas.

Cuantificar los metabolitos especializados de mayor interés mediante CLAE, con el uso de los patrones correspondientes.

Repetir el ensayo hipoglicemiante subsanando los inconvenientes antes comentados y buscando la relación dosis – respuesta más efectiva.

Diseñar formulaciones de interés para la industria farmacéutica donde se aprovechen los beneficios de las cascarillas de café

## BIBLIOGRAFÍA

Adamu, G., Alhassan, A. W., y Tanko, Y. (2017). Effect of Curcumin on Blood Glucose Level and Some Neurobehavioral Responses in Alloxan-induced Diabetic Swiss Albino Mice. *Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences*, 14, 1-7. <https://doi.org/10.9734/JAMPS/2017/34323>

Aguilar, B., y Criollo, D. (2023). *COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LA CASCARILLA DE DOS ESPECIES Coffea arabica Y Coffea canephora* [Trabajo de titulación previo a la obtención del título de bioquímico farmacéutico]. Universidad Técnica de Machala.

Aguirre, L. A., Rodríguez, Z., Saca, V., y Apolo, V. (2018). Bromatological characterization of coffee (*Coffea arabica* L.) pulp for animal feeding purposes. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 52(2), 165-172.

Ali, A., Zahid, H., Cottrell, J., y Dunshea, F. (2022). A Comparative Study for Nutritional and Phytochemical Profiling of *Coffea arabica* (C. arabica) from Different Origins and Their Antioxidant Potential and Molecular Docking. *Molecules*, 27(5126). <https://doi.org/10.3390/molecules27165126>

AOAC. (1990). *Official Methods of Analysis of the Association of official analytical Chemists* (K. Helrich, Ed.; 15th ed., Vol. 1). Association of official analytical Chemists, Inc.

Bangar, S. P., Chaudhary, V., Sharma, N., Bansal, V., Ozogul, F., y Lorenzo, J. M. (2023). Kaempferol: A flavonoid with wider biological activities and its applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(28), 9580-9604. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2067121>

Barcelos, R. P., Lima, F. D., Carvalho, N. R., Bresciani, G., y Royes, L. F. (2020). Caffeine effects on systemic metabolism, oxidative-inflammatory pathways, and exercise performance. *Nutrition Research*, 80, 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2020.05.005>

Benitez, V., Rebollo-Hernanz, M., Hernanz, S., Chantres, S., Aguilera, Y., y Martin-Cabrejas, M. A. (2019). Coffee parchment as a new dietary fiber ingredient: Functional and physiological characterization. *Food Research International*, 122, 105-113. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.04.002>

- Benzie, I. F. F., y Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., y Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Campo Fernández, M., Cruz Alvia, C., Cunalata Cueva, G., y Matute, N.-L. (2020). Infusiones de Moringa oleifera (moringa) combinada con Cymbopogon citratus (hierba luisa) y Lippia alba (mastranto). *Revista Ciencia UNEMI*, 13(34), 114-126.
- Campos, M. I. C., Flores, R. R. F., Landeros, L. L. L., Sanchez, N. A. S., y Rodriguez, L. M. R. (2023). Efecto del Disolvente en la Conformación Estructural de la Glibenclamida. *Quimica Hoy*, 12(03), Article 03. <https://doi.org/10.29105/qh12.03-335>
- Cangeloni, L., Bonechi, C., Leone, G., Consumi, M., Andreassi, M., Magnani, A., Rossi, C., y Tamasi, G. (2022). Characterization of Extracts of Coffee Leaves (*Coffea arabica* L.) by Spectroscopic and Chromatographic/Spectrometric Techniques. *Foods*, 11(16), Article 16. <https://doi.org/10.3390/foods11162495>
- Cangussu, L. B., Melo, J. C., Franca, A. S., y Oliveira, L. S. (2021). Chemical Characterization of Coffee Husks, a By-Product of *Coffea arabica* Production. *Foods*, 10(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/foods10123125>
- Cañas, S., Rebollo-Hernanz, M., Braojos, C., Benítez, V., Ferreras-Charro, R., Dueñas, M., Aguilera, Y., y Martín-Cabrejas, M. A. (2022). Understanding the Gastrointestinal Behavior of the Coffee Pulp Phenolic Compounds under Simulated Conditions. *Antioxidants*, 11(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/antiox11091818>
- Cañas, S., Rebollo-Hernanz, M., Cano-Muñoz, P., Aguilera, Y., Benítez, V., Braojos, C., Gila-Díaz, A., Rodríguez-Rodríguez, P., Cobeta, I. M., Pablo, Á. L. L. de, González, M. del C., Arribas, S. M., y Martín-Cabrejas, M. A. (2020). Critical Evaluation of Coffee Pulp as an Innovative Antioxidant Dietary Fiber Ingredient: Nutritional Value, Functional Properties, and Acute and Sub-Chronic Toxicity. *Proceedings*, 70(1), Article 1. [https://doi.org/10.3390/foods\\_2020-07623](https://doi.org/10.3390/foods_2020-07623)

- Chaves, E. C., y Esquivel, P. (2019). Ácidos clorogénicos presentes en el café: Capacidad antimicrobiana y antioxidante. *Agronomía Mesoamericana*, 299-311. <https://doi.org/10.15517/am.v30i1.32974>
- Coello, F., Peraza-Marrero, M., y Pinto-Catari, I. (2021). FLAVONOIDES: MICRONUTRIENTES CON AMPLIA ACTIVIDAD BIOLÓGICA. *Revista de la Facultad de Medicina*, 44, 108-126.
- Das, S. (2022). Review Post-harvest processing of coffee: An overview. *Coffee Science* - ISSN 1984-3909, 16, e161976-e161976. <https://doi.org/10.25186/v16i.1976>
- del Gaudio, M. P., Bustos, P. S., Konigheim, B. S., y Ortega, M. G. (2021). Estudio químico y de actividad biológica de extractos de frutos Prosopis alpataco Phil, una especie vegetal con uso en la medicina tradicional. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/176512>
- Domínguez Quiroga, D. D. J., y Tejera Suárez, R. A. (2023). Revisión sistemática del efecto de los flavonoides presentes en la semilla del cacao (theobroma cacao L.) para el tratamiento de la diabetes como alimento nutraceutico [Trabajo monográfico previo a la obtención del título de químico farmacéutico]. *Universidad del Atlántico*. <https://repositorio.uniatlantico.edu.co/handle/20.500.12834/1409>
- dos Santos, É. M. D., Macedo, L. M. D., Tundisi, L. L., Ataíde, J. A., Camargo, G. A., Alves, R. C., Oliveira, M. B. P. P., y Mazzola, P. G. (2021). Coffee by-products in topical formulations: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 111, 280-291. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.064>
- Elsawy, H., y Serag El-Din, M. (2021). Utilization of Coffee Husks to Prepare Functional Products. *Suez Canal University Journal of Food Sciences*, 8(1), 19-28. <https://doi.org/10.21608/scuj.2021.200308>
- Erejuwa, O. O., Sulaiman, S. A., y Ab Wahab, M. S. (2014). Modulation of Gut Microbiota in the Management of Metabolic Disorders: The Prospects and Challenges. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(3), 4158-4188. <https://doi.org/10.3390/ijms15034158>
- Esquivel, P., Viñas, M., Steingass, C. B., Gruschwitz, M., Guevara, E., Carle, R., Schweiggert, R. M., y Jiménez, V. M. (2020). Coffee (*Coffea arabica* L.) by-Products as a Source of Carotenoids and Phenolic Compounds—Evaluation of Varieties With

Different Peel Color. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.590597>

Febrianto, N. A., y Zhu, F. (2023). Coffee bean processing: Emerging methods and their effects on chemical, biological and sensory properties. *Food Chemistry*, 412, 135489. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135489>

Fernández, Y., Sotto, K. D., y Vargas, L. A. (2020). Impactos ambientales de la producción del café, y el aprovechamiento sustentable de los residuos generados. *Producción + Limpia*, 15(1), 93-110. <https://doi.org/10.22507/pml.v15n1a7>

Ferreira, T., Shuler, J., Guimaraes, R., y Farah, A. (2019). Introduction to Coffee Plant and Genetics. En *Coffee: Production, Quality and Chemistry* (p. 0). *The Royal Society of Chemistry*. <https://doi.org/10.1039/9781782622437-00001>

Fierro, N., y Morales-Ramos, V. (2018). CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y NUTRIMENTAL DE LA PULPA DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.). *Agro productividad*, 11(4), 9-13. <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/download/261/192/435>

Gauna, D. (2021). "CONSUMO e Fibra Dietética en Pacientes con Diabetes TIPO II que asisten al Consultorio de Nutrición del Hospital Provincial Sayago de la Ciudad de Santa Fe, en el año 2021" [Tesis de licenciatura]. *Universidad de Concepción del Uruguay*. <http://repositorio.ucu.edu.ar/xmlui/handle/522/185>

Haminiuk, C. W. I., Maciel, G. M., Plata-Oviedo, M. S. V., y Peralta, R. M. (2012). Phenolic compounds in fruits – an overview. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(10), 2023-2044. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03067.x>

Hammell, R. (2022). How Does Ultrasonic Assisted Extraction Work? *Extraction Magazine*. <https://extractionmagazine.com/2022/07/02/how-does-ultrasonic-extraction-work/>

Hanan, A.-Y., Anhar, S., y Mayasem, A. (2017). PHARMACOGNOSTIC STUDIES ON COFFEE ARABICA L. HUSKS: A BRILLIANT SOURCE OF ANTIOXIDANT AGENTS. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*, 4(1), 86-92.

Hernández González, G. (2007). Evaluación del efecto antihiper glucémico del bagazo de naranja (*citrus sinensis* var. Valencia) en estudios in vivo e in vitro [Tesis de

licenciatura]. *Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*.  
<http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/handle/231104/1701>

Hoseini, M., Cocco, S., Casucci, C., Cardelli, V., y Corti, G. (2021). Coffee by-products derived resources. A review. *Biomass and Bioenergy*, 148, 106009. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2021.106009>

Huang, J., Xie, M., He, L., Song, X., y Cao, T. (2023). Chlorogenic acid: A review on its mechanisms of anti-inflammation, disease treatment, and related delivery systems. *Frontiers in Pharmacology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1218015>

Janda, K., Jakubczyk, K., Baranowska-Bosiacka, I., Kapczuk, P., Kochman, J., Rębacz-Marón, E., y Gutowska, I. (2020). Mineral Composition and Antioxidant Potential of Coffee Beverages Depending on the Brewing Method. *Foods*, 9(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/foods9020121>

Joët, T., Laffargue, A., Descroix, F., Doubeau, S., Bertrand, B., de Kochko, A., y Dussert, S. (2010). Influence of environmental factors, wet processing and their interactions on the biochemical composition of green Arabica coffee beans. *Food Chemistry*, 118(3), 693-701.

Klingel, T., Kremer, J. I., Gottstein, V., Rajcic de Rezende, T., Schwarz, S., y Lachenmeier, D. W. (2020). A Review of Coffee By-Products Including Leaf, Flower, Cherry, Husk, Silver Skin, and Spent Grounds as Novel Foods within the European Union. *Foods*, 9(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/foods9050665>

Kumar, D., Associate, R., Author, C., y Kumari, R. (2023). COFFEA ARABICA PHARMACOLOGICAL COMPONENT PRIMARY SCREENING BY THIN LAYER CHROMATOGRAPHY. *International Journal of Scientific Research*, 12.

Kumar, S., Abedin, Md. M., Singh, A. K., y Das, S. (2020). Role of Phenolic Compounds in Plant-Defensive Mechanisms. En R. Lone, R. Shuab, y A. N. Kamili (Eds.), *Plant Phenolics in Sustainable Agriculture: Volume 1* (pp. 517-532). *Springer*. [https://doi.org/10.1007/978-981-15-4890-1\\_22](https://doi.org/10.1007/978-981-15-4890-1_22)

Lestari, W., Hasballah, K., Listiawan, M. Y., y Sofia, S. (2022). Coffee by-products as the source of antioxidants: A systematic review (11:220). *F1000Research*. <https://doi.org/10.12688/f1000research.107811.1>



- Lillo, A., Carvajal-Caiconte, F., Nuñez, D., Balboa, N., y Alvear Zamora, M. (2016). Cuantificación espectrofotométrica de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en distintos berries nativos del Cono Sur de América. *RIA. Revista de investigaciones agropecuarias*, 42(2), 168-174.
- Linares, Y. M., Mosquera, D. M. G., Díaz, A. V., Espín, A. P., Alfonso, O. C., y Román, R. E. (2016). Estudio fitoquímico de extractos de hojas de *Cnidocolus chayamansa* Mc Vaugh (Chaya). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 21(4), 1-13.
- Londoño-Hernandez, L., Ruiz, H. A., Cristina Ramírez, T., Ascacio, J. A., Rodríguez-Herrera, R., y Aguilar, C. . (2020). Fungal detoxification of coffee pulp by solid-state fermentation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 23, 101467. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101467>
- López, T. (2006). Plantas medicinales con actividad hipoglucemiante. *Offarm*, 25(5), 82-88.
- Louarn, J., Guyot, B., Lorieux, M., Hamon, S., y Noiro, M. (2001). Relation between biochemical compounds and sensory quality in different hybrids of coffee (*Coffea arabica* L.). *Food Chemistry*, 75(2), 223-230.
- Lozada-Ramírez, J. D., Guerrero-Moras, M. C., González-Peña, M. A., Silva-Pereira, T. S., Anaya de Parrodi, C., y Ortega-Regules, A. E. (2023). Stabilization of Anthocyanins from Coffee (*Coffea arabica* L.) Husks and In Vivo Evaluation of Their Antioxidant Activity. *Molecules*, 28(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/molecules28031353>
- Lu, H., Tian, Z., Cui, Y., Liu, Z., y Ma, X. (2020). Chlorogenic acid: A comprehensive review of the dietary sources, processing effects, bioavailability, beneficial properties, mechanisms of action, and future directions. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(6), 3130-3158. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12620>
- Machado, M., Espírito Santo, L., Machado, S., Lobo, J. C., Costa, A. S. G., Oliveira, M. B. P. P., Ferreira, H., y Alves, R. C. (2023). Bioactive Potential and Chemical Composition of Coffee By-Products: From Pulp to Silverskin. *Foods*, 12(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/foods12122354>

- Melese, Y. Y., y Kolech, S. A. (2021). Coffee (*Coffea arabica* L.): Methods, Objectives, and Future Strategies of Breeding in Ethiopia—Review. *Sustainability*, 13(19), Article 19. <https://doi.org/10.3390/su131910814>
- Mena, L., Mosquera, D. M. G., Díaz, A. V., Espín, A. P., Alfonso, O. C., y Román, R. E. (2016). Phytochemical study of extracts from leaves of *Cnidocolus chayamansa* Mc Vaugh (chaya). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 21(4), 1-13.
- Mestanza, M., Mori-Culqui, P. L., y Chavez, S. G. (2023). Changes of polyphenols and antioxidants of arabica coffee varieties during roasting. *Frontiers in Nutrition*, 10(26). <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1078701>
- Mex, R., Guillen, M., Garma, P., Sarabia, B., Yanez, D., Kantún, J., y Novelo, M. (2022). Actividad Antioxidante de *Cochlospermum vitifolium*. *Journal of Agricultural Sciences Research (2764-0973)*, 2, 2-11. <https://doi.org/10.22533/at.ed.9732152212114>
- Mohamadi, N., Pournamdari, M., Sharififar, F., y Ansari, M. (2020). Simultaneous Spectrophotometric Determination of Trigonelline, Diosgenin and Nicotinic Acid in Dosage Forms Prepared from Fenugreek Seed Extract. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, 19(2), 153-159. <https://doi.org/10.22037/ijpr.2019.1100790>
- Mohammed, A. S. A., Naveed, M., y Jost, N. (2021). Polysaccharides; Classification, Chemical Properties, and Future Perspective Applications in Fields of Pharmacology and Biological Medicine (A Review of Current Applications and Upcoming Potentialities). *Journal of Polymers and the Environment*, 29(8), 2359-2371. <https://doi.org/10.1007/s10924-021-02052-2>
- Morgan, J., y Connolly, E. (2013). Plant-Soil Interactions: Nutrient Uptake | Learn Science at Scitable. <https://www.nature.com/scitable/knowledge/library/plant-soil-interactions-nutrient-uptake-105289112/>
- Moulishankar, A., Ganesan, P., Elumalai, M., y Lakshmanan, K. (2021). Significance of TLC and HPTLC in Phytochemical Screening of Herbal Drugs. *Journal of Global Pharma Technology*, 13, 30-45.

Munteanu, I. G., y Apetrei, C. (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), Article 7. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>

Muñoz C, W., Chavez R, W., Pabón, L. C., Rendón F, M. R., Patricia-Chaparro, M., y Otálvaro-Álvarez, Á. M. (2015). Extracción de compuestos fenólicos con actividad antioxidante a partir de Champa (*Campomanesia lineatifolia*). *Revista CENIC. Ciencias Químicas*, 46, 38-46.

Mussatto, S. I., Ballesteros, L. F., Martins, S., y Teixeira, J. A. (2011). Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. *Separation and Purification Technology*, 83, 173-179.

Najib, A., Ahmad, A., y Labadjo, N. (2015). Chemoprofiling and determination of caffeine content on Arabica Coffee (*Coffea arabica* L.). *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2015, 374-377.

Neves, J. V. G. das, Borges, M. V., Silva, D. de M., Leite, C. X. dos S., Santos, M. R. C., Lima, N. G. B. de, Lannes, S. C. da S., y Silva, M. V. da. (2019). Total phenolic content and primary antioxidant capacity of aqueous extracts of coffee husk: Chemical evaluation and beverage development. *Food Science and Technology*, 39, 348-353. <https://doi.org/10.1590/fst.36018>

NTE INEN 522 (INEN, 1981). Norma Técnica Ecuatoriana. Determinación de fibra cruda en harinas de origen vegetal. Requisitos. *Norma Técnica Ecuatoriana*.

NTE INEN 1123. (2016). Norma Técnica Ecuatoriana. Café tostado en grano o molido. Requisitos. *Norma Técnica Ecuatoriana*.

NTE INEN 2392. (2017). Norma Técnica Ecuatoriana. Hierbas aromáticas. Requisitos. *Servicio Ecuatoriano de Normalización*.

Olaokun, O. O., McGaw, L. J., Eloff, J. N., y Naidoo, V. (2013). Evaluation of the inhibition of carbohydrate hydrolysing enzymes, antioxidant activity and polyphenolic content of extracts of ten African *Ficus* species (Moraceae) used traditionally to treat diabetes. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13, 94. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-94>

Pacheco, T. M., Álvarez, S. T., y Almanza, G. R. (2018). Cuantificación De Compuestos Bioactivos En Cáscara De Coffea Arabica En Bolivia. *Revista Boliviana de Química*, 35(5), 123-132.

Palacios, M., y Panta, A. (2023). COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA CASCARILLA DE TRES VARIEDADES DE COFFEA ARABICA (CAFÉ) [Trabajo de titulación previo a la obtención del título de bioquímico farmacéutico]. *Universidad Técnica de Machala*.

Pillco, C., Guzmán, D., y Cuéllar, J. (2021). COMPOSICIÓN FÍSICO QUÍMICA Y ANÁLISIS PROXIMAL DEL FRUTO DE SOFAIQUE “Geoffroea decorticans (Hook. Et Arn.)” PROCEDENTE DE LA REGIÓN ICA-PERÚ. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 87(1), Article 1. <https://doi.org/10.37761/rsqp.v87i1.319>

Piovesana, A., Rodrigues, E., y Noreña, C. P. Z. (2019). Composition analysis of carotenoids and phenolic compounds and antioxidant activity from hibiscus calyces (*Hibiscus sabdariffa* L.) by HPLC-DAD-MS/MS. *Phytochemical Analysis*, 30(2), 208-217. <https://doi.org/10.1002/pca.2806>

Pisco, M. L. C., Escobar, K. Y. R., y Aguilera, D. D. S. (2023). Efecto antimicrobiano de extractos de cáscara de café (*Coffea arabica*) en *Escherichia coli*, *Trichoderma* spp y *Saccharomyces cerevisiae*. *Ingeniería e Innovación*, 11(1), Article 1. <https://doi.org/10.21897/rii.3452>

Poyilil, S., Palatel, A., y Chandrasekharan, M. (2022). Physico-chemical characterization study of coffee husk for feasibility assessment in fluidized bed gasification process. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(34), 51041-51053. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-17048-7>

Prandi, B., Ferri, M., Monari, S., Zurlini, C., Cigognini, I., Verstringe, S., Schaller, D., Walter, M., Navarini, L., Tassoni, A., Sforza, S., y Tedeschi, T. (2021). Extraction and Chemical Characterization of Functional Phenols and Proteins from Coffee (*Coffea arabica*) By-Products. *Biomolecules*, 11(11), Article 11. <https://doi.org/10.3390/biom11111571>

Prihadi, A. R., Maimulyanti, A., Mellisani, B., y Nurhasanah. (2020). ANTIOXIDANT ACTIVITY, TANNIN CONTENT AND DIETARY FIBER FROM COFFEE HUSK

EXTRACT AND POTENTIAL FOR NUTRACEUTICAL. *Rasayan Journal of Chemistry*, 12(02), 955-959. <https://doi.org/10.31788/RJC.2020.1325613>

Ramírez, J. N. (2012). EFECTO DEL CONSUMO DE FIBRA EN LA DIETA DEL PACIENTE DIABÉTICO. *Revista médica de Costa rica y Centroamérica*, 69(600), 21-23.

Rebollo-Hernanz, M., Cañas, S., Taladrid, D., Benítez, V., Bartolomé, B., Aguilera, Y., y Martín-Cabrejas, M. A. (2021). Revalorization of Coffee Husk: Modeling and Optimizing the Green Sustainable Extraction of Phenolic Compounds. *Foods*, 10(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/foods10030653>

Ribeiro, E. F., Luzia, D. M. M., y Jorge, N. (2019). Antioxidant compounds extraction from coffee husks: The influence of solvent type and ultrasound exposure time. *Acta Scientiarum. Technology*, 41(1), 36451. <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v41i2.36451>

Rodríguez, M., Aguilar, D., y León, J. (2020). Actividad antiinflamatoria de plantas medicinales—Anti-inflammatory activity of medicinal plants (Review). *Revista Granmense de Desarrollo Local*, 16. ISSN: 2664-3065.

Rodríguez, R., Jaramillo, S., Andrés, M. N., y Martínez, C. (2012). Extraction of phenolic compounds from coffee husk. *Quimica Nova*, 35(4), 758-762.

Romauli, N., Siahaan, F., Sagala, M., Sihombing, H., Ambarita, H., y Manurung, H. (2023). Comparative investigation on the nutritional value of fresh coffee pulp, cascara powder, and cascara sap from arabica, robusta, and liberica coffee. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1230, 012153. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1230/1/012153>

Romero, J. M., & Camilo, J. (2019). Manual de producción sostenible de café en la República Dominicana. *Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA)*. <https://repositorio.iica.int/handle/11324/8726>

Roohbakhsh, A., Parhiz, H., Soltani, F., Rezaee, R., y Iranshahi, M. (2015). Molecular mechanisms behind the biological effects of hesperidin and hesperetin for the prevention of cancer and cardiovascular diseases. *Life Sciences*, 124, 64-74. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2014.12.030>

- Sangta, J., Wongkaew, M., Tangpao, T., Withee, P., Haituk, S., Arjin, C., Sringarm, K., Hongsibsong, S., Sutan, K., Pusadee, T., Sommano, S. R., y Cheewangkoon, R. (2021). Recovery of Polyphenolic Fraction from Arabica Coffee Pulp and Its Antifungal Applications. *Plants*, 10(7), Article 7. <https://doi.org/10.3390/plants10071422>
- Santos, É. M. dos, Macedo, L. M. de, Tundisi, L. L., Ataide, J. A., Camargo, G. A., Alves, R. C., Oliveira, M. B. P. P., y Mazzola, P. G. (2021). Coffee by-products in topical formulations: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 111, 280-291. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.064>
- Sierra, J., Roque, H., y Medrano, J. (2013). Aprovechamiento de la cascarilla de café en la elaboración de materiales de construcción. *Revista Ciencia y Tecnología El Higo*, 3, 7-9. <https://doi.org/10.5377/elhigo.v3i1.8636>
- Silva, M. de O., Honfoga, J. N. B., Medeiros, L. L. de, Madruga, M. S., y Bezerra, T. K. A. (2021). Obtaining Bioactive Compounds from the Coffee Husk (*Coffea arabica* L.) Using Different Extraction Methods. *Molecules*, 26(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/molecules26010046>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., y Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *En Methods in Enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Slavin, J. L. (2005). Dietary fiber and body weight. *Nutrition* (Burbank, Los Angeles County, Calif.), 21(3), 411-418. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2004.08.018>
- Tolessa, B., Amena, B. T., Altenbach, H., Tibba, G. S., y Lemu, H. G. (2022). *Analysis of the Negative Impacts of Coffee Husk on the Local Environment*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1178642/v1>
- Turck, D., Bohn, T., Castenmiller, J., De Henauw, S., Hirsch-Ernst, K. I., Maciuk, A., Mangelsdorf, I., McArdle, H. J., Naska, A., Pelaez, C., Pentieva, K., Siani, A., Thies, F., Tsbouri, S., Vinceti, M., Cubadda, F., Frenzel, T., Heinonen, M., Marchelli, R., ... Knutsen, H. K. (2022). Safety of dried coffee husk (cascara) from *Coffea arabica* L. as a Novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283. *EFSA Journal*, 20(2), e07085. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7085>

Valle Acosta, D. B., y Carrión Orellana, M. (/). Actividad hipoglucemiante de la planta tuna (*Opuntia ficus indica*) en ratones <sup>1</sup>. *Universidad, Ciencia y Sociedad*, 18.

Vázquez, M., Aguilar, P., Reyes, A., Carranza, C., Aguilar, M., y Michel, M. R. (2023). *Procyanidins obtained from litchi and coffee residues: A general review*. 10, 29-58.

Veiga, T., Lima, J., Dessimoni, A., Pego, M., Ribeiro Soares, J., y Trugilho, P. (2017). Different plant biomass characterizations for biochar production. *CERNE*, 23, 529-536. <https://doi.org/10.1590/01047760201723042373>

Vergara-Salinas, J. R., Vergara, M., Altamirano, C., Gonzalez, A., y Perez-Correa, J. R. (2015). Valorization of Coffee Pulp by Using the Hydrothermal Extraction Process to Obtain Bioactive Compounds. *Journal of Food Science*, 80(10), C2289-C2297.

Waksmundzka-Hajnos, M., Sherma, J., y Kowalska, T. (Eds.). (2008). *Thin Layer Chromatography in Phytochemistry*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420046786>

Wang, M., Liang, Y., Chen, K., Wang, M., Long, X., Liu, H., Sun, Y., y He, B. (2022). The management of diabetes mellitus by mangiferin: Advances and prospects. *Nanoscale*, 14(6), 2119-2135. <https://doi.org/10.1039/D1NR06690K>

Wong, C.-C., Li, H.-B., Cheng, K.-W., y Chen, F. (2006). A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chemistry*, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.049>

Wong-Paz, J. E., Guyot, S., Aguilar-Zárate, P., Muñoz-Márquez, D. B., Contreras-Esquivel, J. C., y Aguilar, C. N. (2021). Structural characterization of native and oxidized procyanidins (condensed tannins) from coffee pulp (*Coffea arabica*) using phloroglucinolysis and thioglycolysis-HPLC-ESI-MS. *Food Chemistry*, 340, 127830. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127830>

Zhang, J., Sun, X., Liu, P., Zhang, T., Jelderks, J. A., y Corke, H. (2022). Preliminary Characterization of Phytochemicals and Polysaccharides in Diverse Coffee Cascara Samples: Identification, Quantification and Discovery of Novel Compounds. *Foods*, 11(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/foods11121710>