



Escuela Superior Politécnica del Litoral
Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas

Propuesta de una bebida funcional basada en la Cuantificación de Polifenoles y
Cafeína a partir del aprovechamiento de cáscaras deshidratadas de café.

Proyecto Integrador

Previo la obtención del Título de:

INGENIERO QUÍMICO

Presentado por:

María Cristina Freire Guevara

Michel Alejandra Ortiz Pazmiño

Guayaquil - Ecuador

Año: 2023

Dedicatoria

En primer lugar, elevo mi gratitud a Dios, mi guía y fortaleza a lo largo de mi carrera. Reconozco que, sin su presencia, nada de esto sería posible. Mis logros son un reflejo de su testimonio de mi fe en Él. A mis amados padres, Luis y Teresa, quienes son mi pilar fundamental y fuente de inspiración en mi formación académica. Gracias por haber moldeado mi carácter y haber inculcado en mí los valores y principios que guían mi vida. A mis abuelitos: Marcelo, Jorge y Leonor; cada uno de ustedes ha aportado una perspectiva única y valiosa a mi crecimiento personal. Sus palabras han sido faros de orientación y consuelo en momentos de incertidumbre, y su presencia ha sido un refugio de amor. A mis hermanas, Doménica y Danna, gracias por los buenos momentos compartidos y la alegría que han traído a mi vida. A mis buenos amigos, gracias por su apoyo constante durante este proceso.

María Cristina Freire Guevara

Dedicatoria

El presente proyecto lo dedico, sobre todo, a mi Papá Eduardo y a mi Mamá Esther, mi inspiración y motivación constante, que me ha impulsado a seguir adelante en cada paso. A mis hermanos Kevin y Karen, que han sido un apoyo incondicional en todo mi proceso. A mi perrito Danko que siempre ha estado acompañándome todas mis noches de desvelo. A mi novio Marcos, quien con su amor incondicional ha sido mi fuente de fortaleza. Y a las personas que me han ayudado a lo largo de este camino. Este logro fue posible gracias al apoyo de cada uno de ellos que fueron mi inspiración durante este trayecto.

Michel Alejandra Ortiz Pazmiño

Agradecimientos

Queremos expresar nuestro más sincero agradecimiento a Dios por ser nuestra guía en este camino académico. Agradecemos enormemente a nuestro tutor, M.Sc. Michael Rendón, cuya paciencia, orientación y apoyo inquebrantable ha sido fundamental en cada etapa de este proceso. Asimismo, no podemos dejar de expresar nuestro reconocimiento al equipo de laboratorios CIBE y SinQui por su invaluable apoyo. A sus profesores, técnicos y ayudantes quienes aportaron en los diferentes ensayos de este proyecto. Su contribución ha sido fundamental para el éxito de esta tesis.

Declaración Expresa

“Los derechos de titularidad y explotación, nos corresponde conforme al reglamento de propiedad intelectual de la institución; María Cristina Freire Guevara y Michel Alejandra Ortiz Pazmiño, damos nuestro consentimiento para que la ESPOL realice la comunicación pública de la obra por cualquier medio con el fin de promover la consulta, difusión y uso público de la producción intelectual”



Alumno 1



Alumno 2

Evaluadores

Nadia Flores Manrique

Profesor de Materia

Michael Guillermo Rendón Morán

Tutor de proyecto

Resumen

La cáscara de café posee un potencial valioso gracias a su contenido de compuestos bioactivos. El estudio se enfocó en determinar los niveles de polifenoles y cafeína para evaluar su viabilidad como recurso en la industria alimentaria. En este contexto, se analizaron 11 muestras de cáscaras de café obtenidas por diversas fincas del Ecuador. Se aplicó un método convencional de extracción sólido-líquido utilizando cáscaras de café deshidratadas. Estas cáscaras se sometieron a un baño de agua a 60 °C durante 1 hora, seguido de una centrifugación a 3500 rpm durante 10 minutos. Se recolectaron los sobrenadantes y se filtraron con un tamaño de poro de 0.22 μm . Mediante el método de cromatografía líquida (HPLC) con detector de arreglo de diodos y utilizando patrones de referencia, se cuantificaron diez compuestos fitoquímicos: CAF (50.146 mg/g Bs), seguido del ACG (14.767 mg/g Bs), el AS (3.513 mg/g Bs) y la CAQ (1.119 mg/g Bs). Se encontraron niveles moderados de RT (0.996 mg/g Bs), AG (0.888 mg/g Bs) y CFA (0.477 mg/g Bs), mientras que las concentraciones más bajas se registraron en QRC (0.085 mg/g Bs), ECQ (0.085 mg/g Bs) y ACM (0.161 mg/g Bs). Además, los resultados del análisis de componentes principales indicaron que la variedad y la localidad influyeron significativamente en la composición fitoquímica. Los resultados del extracto acuoso de las cáscaras de café indican que pueden ser empleadas como materia prima para la obtención de compuestos bioactivos de interés alimentario para crear bebidas funcionales o energizantes.

Palabras Clave: Cáscara de café, subproducto, polifenoles y cafeína, industria alimentaria, HPLC

Abstract

Coffee skins have valuable potential due to their content of bioactive compounds. The study focused on determining the levels of polyphenols and caffeine to assess their viability as a resource in the food industry. In this context, 11 samples of coffee husks obtained from different farms in Ecuador were analyzed. A conventional solid-liquid extraction method was applied using dehydrated coffee husks. These skins were subjected to a water bath at 60 °C for 1 hour, followed by centrifugation at 3500 rpm for 10 minutes. The supernatants were collected and filtered with a pore size of 0.22 μm . Using the liquid chromatography (HPLC) method with diode array detector and using reference standards, ten phytochemical compounds were quantified: CAF (50,146 mg/g Bs), followed by ACG (14,767 mg/g Bs), AS (3,513 mg/g Bs) and CAQ (1,119 mg/g Bs). Moderate levels of RT (0.996 mg/g Bs), AG (0.888 mg/g Bs) and CFA (0.477 mg/g Bs) were found, while the lowest concentrations were recorded in QRC (0.085 mg/g Bs), ECQ (0.085 mg/g Bs) and ACM (0.161 mg/g Bs). In addition, the results of principal component analysis indicated that variety and locality significantly influenced the phytochemical composition. The results of the aqueous extract of coffee skin indicate that they can be used as a raw material to obtain bioactive compounds of food interest to create functional or energizing beverages.

Keywords: Coffee skin, by-product, polyphenols and caffeine, food industry, HPLC

Índice general

Evaluadores	VI
Resumen	VII
Abstract	VIII
Índice general	IX
Abreviaturas	XII
Simbología	XIV
Índice de Figuras	XV
Índice de tablas	XVI
Capítulo 1	1
1.1 Introducción	2
1.2. Descripción del problema	3
1.3. Justificación del problema	4
1.4. Objetivos	5
1.4.1. Objetivo general	5
1.4.2. Objetivos específicos	5
1.5. Marco teórico	5
1.5.1. Generalidades del café	5
1.5.1.1. Origen y distribución	5
1.5.1.2. Taxonomía del café	6
1.5.1.4. Variedades de especies (C. Arábica L & C. Canephora)	6
1.5.1.5. Estructura morfológica de la cereza de café	7
1.5.1.6. Composición química del café	8
1.5.1.7. Grado de madurez de la cereza de café	9
1.5.2. Cultivo de café en Ecuador	10
1.5.3. Subproductos del procesamiento de café	11
1.5.3.1. Composición química y nutrimental de la pulpa y cascarilla de café	11
1.5.3.2. Características fisicoquímicas	12

1.5.3.2.1. Color.....	12
1.5.3.2.2 Grados Brix.....	12
1.5.3.2.3 pH.....	12
1.5.3.2.4 Humedad	12
1.5.3.2.5 Actividad de agua.....	12
1.5.4 Polifenoles y cafeína.....	13
1.5.5 Métodos de evaluación de polifenoles y cafeína	15
1.5.6 Variables implicadas en la extracción de polifenoles.....	15
1.5.7 Investigaciones preliminares sobre aprovechamiento de la cáscara de café	16
Capítulo 2.....	17
2.1 Metodología.....	18
2.1.1 Diseño Metodológico	18
2.1.2 Enfoque.....	18
2.1.3 Lugar de estudio	19
2.1.4 Población y Muestra	19
2.1.5 Conservación de muestras	20
2.1.6 Operacionalización de Variables e indicadores.....	20
2.1.7 Procesamiento de muestras.....	21
2.1.7.1 Evaluación de las condiciones de secado.....	21
2.1.7.2 Proceso de secado en estufa	21
2.1.7.3 Molido de muestras	25
2.1.8 Parámetros evaluados	25
2.1.8.1 Determinación del porcentaje de humedad	25
2.1.8.2 Actividad de agua.....	26
2.1.8.3 Grados Brix	26
2.1.8.4 pH.....	27
2.1.9 Calibración y preparación de muestras en análisis.....	27
2.1.9.1 Método utilizado para los Estándares.....	27
2.1.9.2 Condiciones cromatográficas	31
2.1.9.3 Capacidad de selección o especificidad	32

2.1.9.4 Curva de calibración.....	33
2.1.9.5 Obtención del extracto acuoso de la cáscara de café.....	37
2.1.9.6 Cuantificación de cafeína y polifenoles en extractos de cáscara de café	39
2.1.10 Análisis estadísticos.....	40
Capítulo 3	41
3.1 Resultados y análisis	42
3.1.1 Secado de cáscaras de café	42
3.1.2 Actividad de agua en cáscaras de café.....	42
3.1.3 pH de cáscaras de café	43
3.1.4 Grados Brix en cáscaras de café	44
3.1.5 Cuantificación de polifenoles y cafeína en cáscaras de café	45
3.1.5.1 Ácidos fenólicos, Flavonoides y cafeína.....	50
3.1.5.2 Comparación de compuestos polifenoles y cafeína con otros estudios.....	53
3.1.6 Estudio estadístico mediante análisis de componentes principales y ANOVA multifactorial	54
3.1.7 Propuesta de producto	58
Capítulo 4	62
4.1 Conclusiones y recomendaciones	63
4.1.1 Conclusiones.....	63
4.1.2 Recomendaciones	65
Bibliografía.....	66

Abreviaturas

ACG	Ácido clorogénico
ACTRFSM	Arábica/Café canephora (Typica/Robusta), cáscara fresca, seco, Manabí.
ACSSL	Arábica, Caturra, cáscara seca, seco, Loja.
ACSSM	Arábica, Caturra, fruto seco, seco, Manabí.
AG	Ácido gálico
AKHMM	Arábica, Kawa, cáscara húmeda, sobre maduro, Manabí.
ANOVA	Análisis de Varianza Multifactorial
AS	Ácido siríngico
ASSSQ	Arábica, SL28, cáscara seca, seco, Quito.
ATSML	Arábica, Typica, cáscara seca, sobre maduro, Loja.
ATHAC	Arábica, Typica, fruto húmedo, verde amarillo, Caluma.
ATHMM	Arábica, Typica, fruto húmedo, maduro, Manabí.
BH	Base Húmeda
BS	Base Seca
CAQ	Catequina
CFA	Cafeína
CGA	Ácido clorogénico
CIBE	Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador
CRHMP	Canephora (Robusta), fruto húmedo, sobre maduro, Piñas.
CRMSP	Canephora (Robusta), cascarilla molida, seco, Piñas.
ECQ	Epicatequina
ESPOL	Escuela Superior Politécnica del Litoral
FCNM	Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas

H	Humedad
HPLC	Cromatografía Líquida de Alta Resolución
INEN	Instituto Ecuatoriano de Normalización.
LOD	Límite de Detección
LOQ	Límite de Cuantificación
MAGAP	Misterio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca
ND	No Detectado
PC1	Primero Componentes Principales
PC2	Segundo Componentes Principales
PCA	Análisis de Componentes Principales
ROS	Especies Reactivas de Oxígeno
SD	Desviación Estándar
TLC	Cromatografía de Capa Fina
TR	Tiempo de Retención
TSS	Sólidos Solubles Totales
UV	Radiación Ultravioleta
UV-VIS	Radiación Ultravioleta-Visible

Simbología

ml	Mililitros
mg	Miligramo
pH	Potencial de Hidrógeno
m	Metro
L	Litros
cm	Centímetros
g	Gramos
C	Carbono
Mn	Manganeso
°B	Grados Brix
Kg	Kilogramos
μl	Microlitros
μm	Micrómetros
mm	Milímetros
nm	Nanómetros
ppm	Partes por millón
rpm	Revoluciones por minutos
ha	Hectáreas
m.s.n.m.	Metros sobre el nivel del mar

Índice de Figuras

Figura 1.1 Estructura de la cereza del café.....	7
Figura 1.2 Esquema de los Diversos Usos de las Cáscaras de Café	16
Figura 2.1. Diseño metodológico de la investigación	18
Figura 2.2. Proceso de despulpado del café utilizando un mortero.....	21
Figura 2.3 Pesaje de cáscaras de café en crisol	22
Figura 2.4 Secado de cáscaras de café	22
Figura 2.5 Masa de control de cáscaras de café posterior al secado	23
Figura 2.6. Secado de cáscaras de café	23
Figura 2.7. Lote A - Apariencia de cáscaras secas de café	24
Figura 2.8. Lote B - Apariencia de cáscaras secas de café.....	24
Figura 2.9. Lote C - Apariencia de cáscara seca de café.....	24
Figura 2.10. Proceso de molido de café	25
Figura 2.11. Medición de grados Brix en extractos acuosos de cáscara de café.....	26
Figura 2.12. Medición de pH en extractos acuosos de cáscara de café.....	27
Figura 2.13. Preparación de estándares en matraz volumétrico de 10 ml	27
Figura 2.14. Almacenamiento en frío de estándares preparados en frascos ámbar.....	28
Figura 2.15 Dosificación de la alícuota de estándares en viales ámbar	28
Figura 2.16. Equipo HPLC marca Waters.....	31
Figura 2.17 Perfil cromatográfico de polifenoles.....	32
Figura 2.18. Preparación de soluciones estándar para curva de calibración.....	34
Figura 2.19. Pesaje por triplicado de molido de café en tubo vortex	38
Figura 2.20. Remoción de la cáscara seca del café usando agua destilada	39
Figura 2.21. Análisis de muestras de café por HPLC	40
Figura 3. 1 Contenido de humedad vs Tiempo	42
Figura 3. 2 pH de distintas variedades de cáscaras de café	43
Figura 3. 3 Grados brix en distintas variedades de cáscaras de café.....	44
Figura 3. 4 Perfil cromatográfico de muestras a 280nm y 320nm	46
Figura 3. 5 Contenido de ácidos fenólicos en cáscaras de café.....	50
Figura 3. 6 Contenido de flavonoides en cáscaras de café.....	51
Figura 3. 7 Contenido de cafeína en cáscaras de café	52

Figura 3. 8 Análisis PCA.....	54
Figura 3. 9 Mapa de calor de compuestos fitoquímicos en cáscaras de café	57
Figura 3. 10 Contenido de Polifenoles y cafeína en Fuze Tea	58

Índice de tablas

Tabla 1. 1 Taxonomía del café	6
Tabla 1. 2 Promedios de la composición química del grano de café	8
Tabla 1. 3 Colores del fruto de café según escala Pantone	9
Tabla 1.4 Superficie cafetalera más representativa en el Ecuador	10
Tabla 1. 5 Composición Química de la pulpa de café.....	11
Tabla 1. 6 Composición Química de la cascarilla de café.....	11
Tabla 1. 7 Clasificación y propiedades de los compuestos polifenoles	14
Tabla 2.1 Información de muestras de café (Coffea Arábica L. & Coffea Canephora).....	19
Tabla 2.2 Operacionalización de Variables e indicadores	20
Tabla 2. 3 Valores de actividad de agua de soluciones salinas saturadas para calibración.....	26
Tabla 2. 4 Descripción exhaustiva de los estándares a emplear.....	29
Tabla 2. 5 Características y concentraciones de los estándares	30
Tabla 2. 6 Tiempo de retención y longitud de onda de los estándares.....	32
Tabla 2. 7 Alícuota de los estándares a una concentración de 20mg/l.....	33
Tabla 2. 8 Alícuota de las diferentes concentraciones	34
Tabla 2. 9 Resultados cuantitativos de los diferentes estándares por HPLC	35
Tabla 2. 10 Datos de peso de las muestras	37
Tabla 3. 1 Resultados de la actividad de agua presentes en cáscaras de café	42
Tabla 3. 2 Límites de detección (LOD) y Límites de cuantificación (LOQ)	46
Tabla 3. 3 Validación y comparación de los compuestos de ácidos fenólicos en la cáscara de café	48
Tabla 3. 4 Validación y comparación del contenido del flavonoides y cafeína en la cáscara de café	49
Tabla 3. 5 Resultados de ácidos fenólicos obtenidos del presente trabajo en comparación a otros estudios.....	53

Tabla 3. 6 Resultados de flavonoides obtenidos del presente trabajo en comparación a otros estudios.....	53
Tabla 3. 7 Resultados de cafeína obtenidos del presente trabajo en comparación a otros estudios	53
Tabla 3. 8 Características y contenido de cafeína del Fuze tea y Muestra.....	59
Tabla 3. 9 Presupuesto para la elaboración de la bebida propuesta	60
Tabla 3. 10 Costo de materiales directos e insumos.....	61

Capítulo 1

1.1 Introducción

En los últimos años, ha surgido una creciente preocupación por la sostenibilidad y la revalorización de los residuos generados por diferentes industrias. La industria del café debe gestionar los subproductos, como la cáscara de café, que se desechan en grandes cantidades. (Farah et al., 2008).

Tradicionalmente, la cáscara de café se consideraba un desecho y se destinaba al compostaje o incineración, lo que generaba un impacto ambiental negativo. Sin embargo, se ha descubierto que la cáscara de café contiene valiosos compuestos bioactivos, como los polifenoles con propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y anticancerígenas, y la cafeína, que actúa como estimulante del sistema nervioso central (Rebollo-Hernanz et al., 2019).

Antes de considerar su uso en productos alimentarios, es necesario evaluar minuciosamente su contenido de polifenoles y cafeína, así como los factores que afectan su concentración. Esto ayudaría a reducir residuos y obtener ingredientes naturales con fines comerciales, promoviendo prácticas más sostenibles en la industria alimentaria.

En esta tesis, se evaluará el contenido de polifenoles y cafeína en los residuos de cáscara de café para determinar su viabilidad como materia prima en la industria alimentaria. Se utilizarán métodos de extracción y análisis para cuantificar los compuestos bioactivos presentes y se investigarán estrategias de procesamiento para conservar su contenido y calidad.

También, se abordarán aspectos relacionados con la estabilidad y la seguridad alimentaria de los extractos obtenidos (Farah et al., 2008). Los resultados de esta investigación podrían guiar futuras investigaciones y la creación de productos enriquecidos con polifenoles y cafeína de la cáscara de café, generando impactos positivos en economía, medio ambiente y salud pública. (Rebollo-Hernanz et al., 2019)

1.2. Descripción del problema

El café es un producto de gran demanda a nivel mundial y desempeña un papel fundamental en la economía de muchos países en desarrollo. Sin embargo, enfrenta un gran desafío en términos de aprovechamiento de sus subproductos. A pesar de que la producción anual de café supera los 10 millones de toneladas, más del 90% de esta producción se considera desperdicio, incluyendo la cáscara (Sousa et al., 2021).

La cáscara representa el 45% del peso total de la cereza de café. Se estima que el consumidor promedio de café es responsable de generar alrededor de 3 kg de desperdicio de cáscara por año, lo que resulta en una cifra alarmante de más de 1,7 millones de toneladas de cáscara de café desperdiciadas a nivel mundial (Echeverría et al., 2017).

Esta situación plantea una oportunidad para la industria del café en cuanto al aprovechamiento de los subproductos y la adopción de prácticas sostenibles. Según datos disponibles, solo se utiliza alrededor del 5% del fruto fresco del cafetal para bebidas. Mientras que aproximadamente 250.000 toneladas de desechos de café terminan en vertederos cada año, generando un impacto significativo en el medio ambiente (Virgüez Garzón & Ciro Castro, 2019).

Se registra que el 58% de los caficultores realiza un manejo inadecuado de estos subproductos, la mayoría son descartados en efluentes, mientras que su uso en la alimentación animal o compostaje es poco común. A pesar de los componentes saludables como polifenoles y cafeína, su potencial no se está aprovechando plenamente (Suárez Albarracín, 2018).

Con el crecimiento continuo de la producción y el consumo de café a nivel mundial, es crucial encontrar formas innovadoras de aprovechar estos subproductos para la creación de productos diferenciados y sostenibles, contribuyendo a una economía más circular. Por ejemplo, el desarrollo de infusiones a base de cáscara de café o alimentos enriquecidos con sus beneficiosos componentes.

1.3. Justificación del problema

La cáscara de café posee un potencial prometedor en la industria alimentaria. Estos compuestos bioactivos han sido ampliamente estudiados por sus propiedades beneficiosas para la salud humana, como su capacidad antioxidante y sus efectos estimulantes. Aprovechar la cáscara de café como una fuente rica en polifenoles y cafeína puede abrir nuevas oportunidades para la generación de productos alimentarios innovadores.

El principal motivo para la valorización de la cáscara de café radica en su potencial nutricional. Los polifenoles presentes en la cáscara de café han sido asociados con propiedades antioxidantes que ayudan a combatir el estrés oxidativo y reducir el riesgo de enfermedades crónicas. Por otra parte, la cafeína, tiene efectos estimulantes que pueden proporcionar beneficios cognitivos y mejorar el estado de alerta.

La valorización de la cáscara de café puede contribuir a la reducción de residuos en la industria alimentaria. Al utilizar la cáscara de café como una fuente de polifenoles y cafeína, se promueve la economía circular al convertir un residuo en una valiosa materia prima, reduciendo así la carga ambiental asociada con su eliminación.

La investigación de la valorización de la cáscara de café tiene el potencial de generar productos alimentarios innovadores y diferenciados en el mercado. La incorporación de la cáscara de café puede agregar un perfil de sabor único y distintivo a los productos alimentarios, permitiendo a las empresas destacarse por su sabor y ofrecer beneficios para la salud. Esta innovación puede ser clave para diferenciarse en un mercado cada vez más competitivo y demandante.

En términos económicos, el desarrollo de productos innovadores puede crear nuevas oportunidades comerciales para las empresas. Sobre todo, esta valorización puede tener un impacto positivo en las comunidades productoras de café, al promover empleo en estas regiones.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

Determinar los niveles de polifenoles y cafeína presentes en las cáscaras de café proveniente de fuentes agrícolas e industriales, para la evaluación de su potencial en la industria alimentaria.

1.4.2. Objetivos específicos

- Desarrollar una metodología de análisis cromatográfico de polifenoles y cafeína en la cáscara de café siguiendo los criterios establecidos en la norma ISO 17025.
- Determinar la concentración de compuestos fenólicos presentes en la cáscara de café mediante el método de cromatografía líquida (HPLC) con detector de arreglos de diodos.
- Analizar la influencia de la variedad y localidad de las muestras según el contenido de polifenoles totales y cafeína para la elaboración de una propuesta basada en el aprovechamiento de cáscaras de café.

1.5. Marco teórico

1.5.1. Generalidades del café

1.5.1.1. Origen y distribución

El origen etimológico de la palabra "café" se remonta al término árabe "Qahwa", el cual se traduce como una bebida o vino estimulante. Por otro lado, en el vocablo turco, el término "Kahve", que hace referencia al fruto o semilla del cafeto. Estas denominaciones lingüísticas reflejan la historia cultural asociada al café en diferentes regiones del mundo (Bettancourt, 2002).

El Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP) informa que el café fue introducido en Ecuador en el año 1764 por Thomas Nugent, quien importó de semillas de la isla de Martinica. Esta planta se extendió por todo el país, siendo la provincia de Manabí una de las primeras en comenzar la actividad cafetalera (Monge, 2015).

1.5.1.2. Taxonomía del café

El café pertenece al género *Coffea* y engloba aproximadamente 100 especies distintas. No obstante, únicamente dos de estas especies son cultivadas con fines comerciales: *Coffea* Arábica L. y *C. Canephora* (Cofenac, 2012) . A continuación, se proporciona una descripción exhaustiva sobre la taxonomía del café.

Tabla 1. 1

Taxonomía del café

Reino	Descripción
División	Magnoliophyta
Sub-División	Angiospermae
Clase	Magnoliata
Subclase	Asteridae
Orden	Rubiales
Familia	Rubiaceae
Género	<i>Coffea</i>
Especie(s)	<i>C. arábica</i> , <i>C. Canephora</i> , <i>C. Liberiano</i>

Nota. Fuente: UCC, 2016

1.5.1.4. Variedades de especies (*C. Arábica* L & *C. Canephora*)

La especie *Coffea* Arábica L, posee dos variedades botánicas que son *Typica* y *Bourbon*, esta última ha dado origen a mutaciones naturales como *Caturra* (Brasil, Colombia). La variedad *SL28* (Kenia, África) fue desarrollada por *Scott Laboratories* en 1930 mediante el cruce de *Bourbon* y *Typica* (MAG, 2018).

Las variedades antes mencionadas se cultivan en zonas húmedas y altitudes entre 600 a 1200 m.s.n.m., además el contenido de cafeína es relativamente bajo, 0.9% y 1,5% (Sánchez Reyes, 2009). En el Noroccidente de Pichincha se producen variedades como *Caturra*, *Typica*, *SL28* y *Bourbon*, favorecidas por condiciones agroecológicas únicas (Cofenac, 2012).

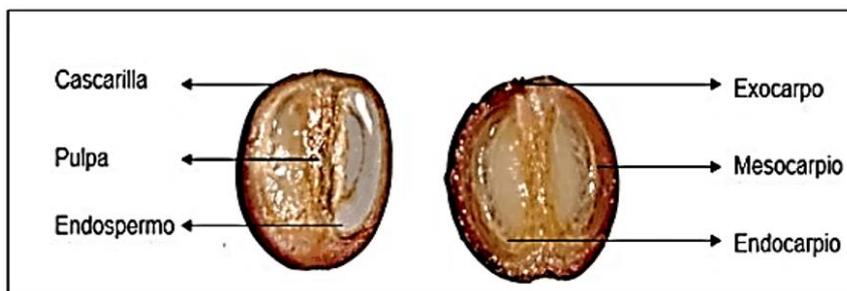
Por otro lado, la especie *Coffea canephora* tiene una gran adaptabilidad en tierras bajas, cálidas y húmedas con altitudes entre 500 a 1500 m.s.n.m. La Asociación Nacional de Exportadores de Café registra que las dos variedades de *Coffea canephora* más predominantes en Ecuador son Conilón y Robusta (ANECAFÉ, 2019). Se reporta que la concentración de cafeína en estas variedades es más alta que en el café arábico, alcanzando un 2.7% (Sánchez Reyes, 2009)

1.5.1.5. Estructura morfológica de la cereza de café

- **Pericarpio:** El pericarpio del café está compuesto por tres capas distintas:
 - **Exocarpio:** Es la capa externa del fruto de café y su color varía según su madurez y de la variedad del café. (Rocío, 2021)
 - **Mesocarpio:** Representa la pulpa y mucílago del fruto. Durante la maduración, da lugar a un hidrogel rico en azúcares y pectinas. (Rocío, 2021)
 - **Endocarpio:** Es la cáscara que envuelve el grano de café. (Rocío, 2021)
- **Endospermo:** Representa al grano de café. Es la parte del fruto que, una vez que ha sido tostada y molida, se convierte en la bebida de café. (Rocío, 2021).

Figura 1.1

Estructura de la cereza del café



Nota. Fuente (Rocío, 2021)

1.5.1.6. Composición química del café

La composición química del café incluye tanto agua como materia seca. La materia seca de los granos de café se compone de minerales y diversas sustancias orgánicas, como carbohidratos, lípidos, proteínas, alcaloides (como la cafeína y la trigonelina), ácidos carboxílicos y fenólicos, y compuestos volátiles que contribuyen al aroma característico de los granos de café (Manosalvas, 2017).

Tabla 1. 2

Promedios de la composición química del grano de café

Composición química	Arábica (%)	Robusta (%)
Polisacáridos	50,8	56,40
Sacarosa	8,00	4,00
Azúcares reductores	0,10	0,40
Proteínas	9,80	9,50
Aminoácidos	0,50	0,80
Cafeína	1,20	2,20
Trigonelina	1,00	0,70
Lípidos	16,20	10,00
Ácidos alifáticos	1,10	1,20
Ácidos clorogénicos	6,90	10,40
Minerales	4,20	4,40

Nota. Fuente: (Puerta G. I., 2011)

1.5.1.7. Grado de madurez de la cereza de café

La recolección se basa en el color del fruto, que varía según la variedad y propiedades químicas, desde tonos verdes, amarillos y rojos. La Tabla 1.3 muestra la escala de madurez del café que describe el color del fruto, su etapa de cosecha y la edad en días después de la floración (ddf). También cuantifica los pigmentos presentes, como Cian (C), Magenta (M), Amarillo (Y) y Negro (K), identificando ocho estados de madurez diferentes (Marín et al., 2013)

Tabla 1. 3

Colores del fruto de café según escala Pantone.

Estado	Edad del fruto	Escala de color Pantone(%)*				Escala de color
		Cian (C)	Magenta (M)	Amarillo (Y)	Negro (K)	
 VERDE 1	182	35	0	100	40	Color verde oscuro
 VERDE 2	189	35	0	100	30	Color verde oscuro
 VERDE 3	196	40	20	100	15	Coloración verde oscura brillante
 VERDE AMARILLO	203	20	0	100	40	Coloración verde con tonalidades amarillas
 PINTON	210	20 10	0 75	100 80	40 0	Color verde cera al pedúnculo
 MADURO	217	0 10	100 80	90 70	10 15	Color rojo brillante/opaco
 SOBREMADURO	224	10 0	100 35	50 0	30 100	Color morado brillante/opaco
 SECO	231	0 0	0 0	35 25	100 80	Color café oscuro (pulpa adherida a la almendra)

Nota. Ocho estados de madurez del café. Fuente: (Marín et al., 2013)

1.5.2. Cultivo de café en Ecuador

Las dos especies de café predominantes en el país son: *Coffea arábica* L. y *Coffea canephora*, que ocupan el 65% y 33% del área cultivada mundial, respectivamente. En el país, existen alrededor de 231,919 hectáreas de cafetales, con 151,958 hectáreas (66%) dedicadas al café arábigo, localizadas en las cordilleras Andinas Occidental y Oriental, a altitudes que oscilan entre los 500 y 1800 (m.s.n.m.).

Este tipo de cultivo es predominante en las provincias de Manabí, El Oro, Loja, Sucumbíos, Cañar y Guayas (Bettancourt, 2002). Mientras que 79,969 hectáreas (34%) están destinadas a la especie robusta, cultivada por debajo de los 600 (m.s.n.m.), en provincias como Esmeraldas, Pichincha, Santo Domingo, Los Ríos, Napo, Sucumbíos y Orellana (FAO et al., 2012). La superficie cafetalera por provincia se describe en la tabla 1.4

Tabla 1.4

Superficie cafetalera más representativa en el Ecuador

Provincias	Coffea arábica (ha)	Coffea robusta (ha)
Esmeraldas	1.800	6.345
Manabí	70.050	0
Guayas	11.195	425
Los Ríos	4.770	6.610
El Oro	9.730	0
Pichincha	1.300	1.300
Santo Domingo	0	5.300
Cotopaxi	2.000	1.600
Loja	29.345	0
Bolívar	3.410	3.780
Sucumbíos	0	17.320
Orellana	0	20.000
Napo	120	4.800
Zamora Chinchipe	6.350	0

Nota. Adaptado de (Cofenac, 2012)

1.5.3. Subproductos del procesamiento de café

En el cultivo del café, alrededor del 5% del fruto se utiliza en su preparación, mientras que el 95% restante representa los residuos generados, incluyendo la cáscara (pulpa y cascarilla) y mucílago. (Cofenac, 2012). La pulpa constituye el 56% del peso del fruto fresco, además de contener agua (21%), cascarilla (7%), mucílago (16%). (Virgüez Garzón, 2019).

1.5.3.1. Composición química y nutrimental de la pulpa y cascarilla de café

La composición química de la pulpa y cascarilla difiere según la variedad de café, la ubicación geográfica y las prácticas agrícolas utilizadas (Zavala, 2021).

Tabla 1. 5

Composición Química de la pulpa de café

%	Fresca	Deshidratada	Fermentada natural
Humedad	76,7	12,6	7,9
Materia seca	23,3	87,4	92,1
Fibra cruda	3,4	21,0	20,8
Proteína cruda N x 6.25	2,1	11,2	10,7
Cenizas	1,5	8,3	8,8

Nota. Fuente: (Puerta G. I., 2011)

Tabla 1. 6

Composición Química de la cascarilla de café

%	Cascarilla de café
Humedad	7,6
Materia seca	92,8
Fibra cruda	70,0
Proteína cruda N x 6.25	2,4
Cenizas	0,5

Nota. Fuente: (Puerta G. I., 2011)

1.5.3.2. Características fisicoquímicas

1.5.3.2.1. Color

La madurez de la cereza se relaciona con cambios en la concentración de sólidos solubles y acidez, que influyen en la síntesis o descomposición de pigmentos como antocianinas, carotenoides y clorofila (Marín et al., 2013).

1.5.3.2.2 Grados Brix

Los grados brix se utilizan para medir el contenido de azúcares o compuestos solubles en la cáscara de café, lo que puede estar relacionado con su madurez, calidad o características físicas (Davis et al., 2019).

1.5.3.2.3 pH

El pH del fruto del cafeto disminuye con la maduración debido a la fermentación de azúcares y ácidos orgánicos (Pulgarín, 2014).

1.5.3.2.4 Humedad

La humedad de un producto es el porcentaje que ocupa el agua en la masa total de materia sólida y se puede expresar en base húmeda (bh) o en base seca (bs). En el café, es recomendable que la humedad no supere el 13% para evitar un mayor riesgo de daños físicos y descomposición causada por microorganismos (Masson, 2009)

1.5.3.2.5 Actividad de agua

Se expresa como la relación entre la presión parcial de vapor de agua sobre el alimento (P_a) y la presión de vapor de saturación del agua pura a la misma temperatura (P_{a0}).

1.5.4 Polifenoles y cafeína

Los polifenoles son compuestos aromáticos derivados de los ácidos mevalónico y shikímico, y se encuentran ampliamente en plantas y bebidas, como el café. Se ha demostrado que su consumo está asociado con la reducción del riesgo de enfermedades crónicas (Middleton et al., 1994). En una taza de café filtrado de 100 ml, se encuentran presentes 266.7 mg de polifenoles totales, y la gran mayoría, alrededor del 98%, son ácidos hidroxicinámicos (Preedy et al., 2015). Entre estos compuestos, el más abundante es el ácido 5-O-Cafeoilquinico, con una cantidad de 43.1 mg en café arábica y 75.8 mg en café robusta (Neveu et al., 2010)

Los ácidos clorogénicos (CGA) son compuestos esterificados que resultan de la combinación de ácido quínico con ácidos tras-cinámico, siendo el ácido cafeico y ferúlico los que conforman este último grupo en el café. Estos compuestos son los responsables de otorgar al café su característico aroma y acidez (Puerta, 2000)

Otros ácidos fenólicos que se encuentran en el café son las isoflavonas, ligninas, taninos y antocianinas. Las isoflavonas y ligninas pertenecen al grupo de fitoestrógenos que tienen capacidad protectora contra la hipercolesterolemia, carcinogénesis y osteoporosis (Saura, 2014).

Por otro lado, la cafeína es un alcaloide presente en el café, el té, el chocolate y ciertas bebidas energéticas. Se encuentra en mayor concentración en la variedad robusta con 2,1%, mientras que el café arábica posee 1,3% de cafeína (Puerta, 2011). Tiene un efecto directo como estimulante del sistema nervioso central, reduciendo el cansancio y aumentando el estado de alerta para mejorar el rendimiento físico y mental.

Al consumir una gran cantidad de cafeína esta podría causar dependencia y su concentración en una bebida energizante debe estar entre 250 mg L⁻¹ y 320 mg L⁻¹ (NTE INEN 2 411:2015).

La tabla 1.7 presenta la clasificación de los compuestos fenólicos y sus propiedades.

Tabla 1.7

Clasificación y propiedades de los compuestos polifenoles

Grupo	Subgrupo	Sustancias	Propiedades
Ácidos fenólicos	Ácidos benzoicos	Ácido gálico, Ácido Siríngico	Antioxidante frente a desordenes cardiovasculares, antiinflamatorias y anticancerígenas
	Ácidos hidroxicinámicos	Ácido clorogénico, Ácido cafeico, Ácido p-cumárico	
Flavonoides y compuestos relacionados	Flavonoles	Rutina, Quercetina, Kaempferol	Antiinflamatorio, antioxidante, anticancerígeno, antidiabético efecto metabólico, actividad enzimática, anticoagulante.
	Flavanoles	Catequina, Epicatequina, Galocatequina	
	Isoflavonas	Daicina, Genistina, Daiceina	
	Flavonas	Apigenina	
	Flavanonas	Naringenina, Naringina	
	Antocianidinas	Malvidina, Cianidina, Delfinidina, Petunidin	
Xantinas	-	Cafeína, Teofilina, Teobromina	Antiinflamatorios, diurético

Nota. Fuente: Adaptado (Padilla, 2018)

1.5.5 Métodos de evaluación de polifenoles y cafeína

La evaluación precisa del contenido de polifenoles y cafeína en los residuos de cáscara de café requiere de métodos analíticos específicos. Para la determinación de los polifenoles, se utilizan técnicas de extracción y cuantificación, como la extracción con solventes y la cuantificación mediante técnicas cromatográficas (Gao et al., 2019).

Las técnicas cromatográficas, como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y la cromatografía de capa fina (TLC), son ampliamente utilizadas para la separación y cuantificación de diferentes polifenoles presentes en los residuos de cáscara de café (Liu et al., 2018). En este estudio, se empleará la extracción con solvente acuoso mediante Baño María.

1.5.6 Variables implicadas en la extracción de polifenoles

La etapa de pre-extracción en el estudio de propiedades biológicas de compuestos fitoquímicos involucra la preparación de la muestra para preservar biomoléculas antes de la extracción, pudiendo optar por secar hojas, tallo, cáscaras, pulpas.

El estudio de (Seremet, 2016) analizó el efecto del método de secado en la curva de secado y la capacidad de rehidratación de muestras de calabaza. Se demostró que el secado con aire caliente aumentó la capacidad de rehidratación de muestras de calabaza. La eliminación de agua de las células altera las propiedades del sistema, permitiendo que la pared celular absorba y retenga el solvente.

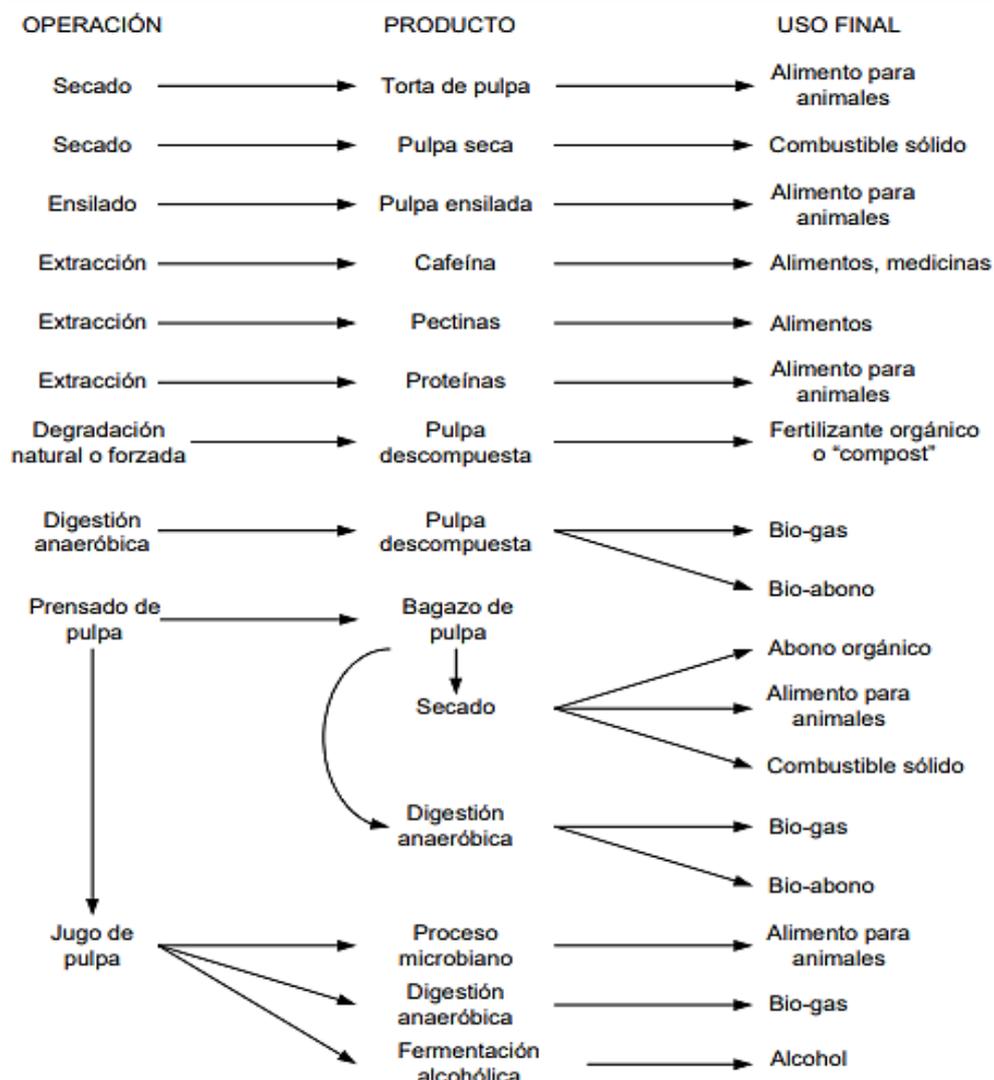
(Safdar et al., 2017) demostró que la combinación de agua y etanol favorece la extracción de compuestos con polaridad similar. Por otro lado, la relación soluto: solvente es esencial, según Xi et al. (2009), ya que la saturación del solvente en compuestos bioactivos detiene la difusión, afectando los resultados de la extracción de compuestos fitoquímicos.

1.5.7 Investigaciones preliminares sobre aprovechamiento de la cáscara de café

La investigación y desarrollo de la cáscara de café en la industria alimentaria son clave para aprovechar su potencial y buscar nuevas oportunidades comerciales. Se requiere de un enfoque multidisciplinario con expertos en alimentos, nutrición, tecnología y sostenibilidad. También es importante evaluar la calidad y seguridad de los productos derivados de la cáscara de café para garantizar su aceptación y cumplir con las regulaciones alimentarias establecidas. (Capanoglu et al., 2018)

Figura 2.2

Esquema de los Diversos Usos de las Cáscaras de Café



Capítulo 2

2.1 Metodología.

2.1.1 Diseño Metodológico

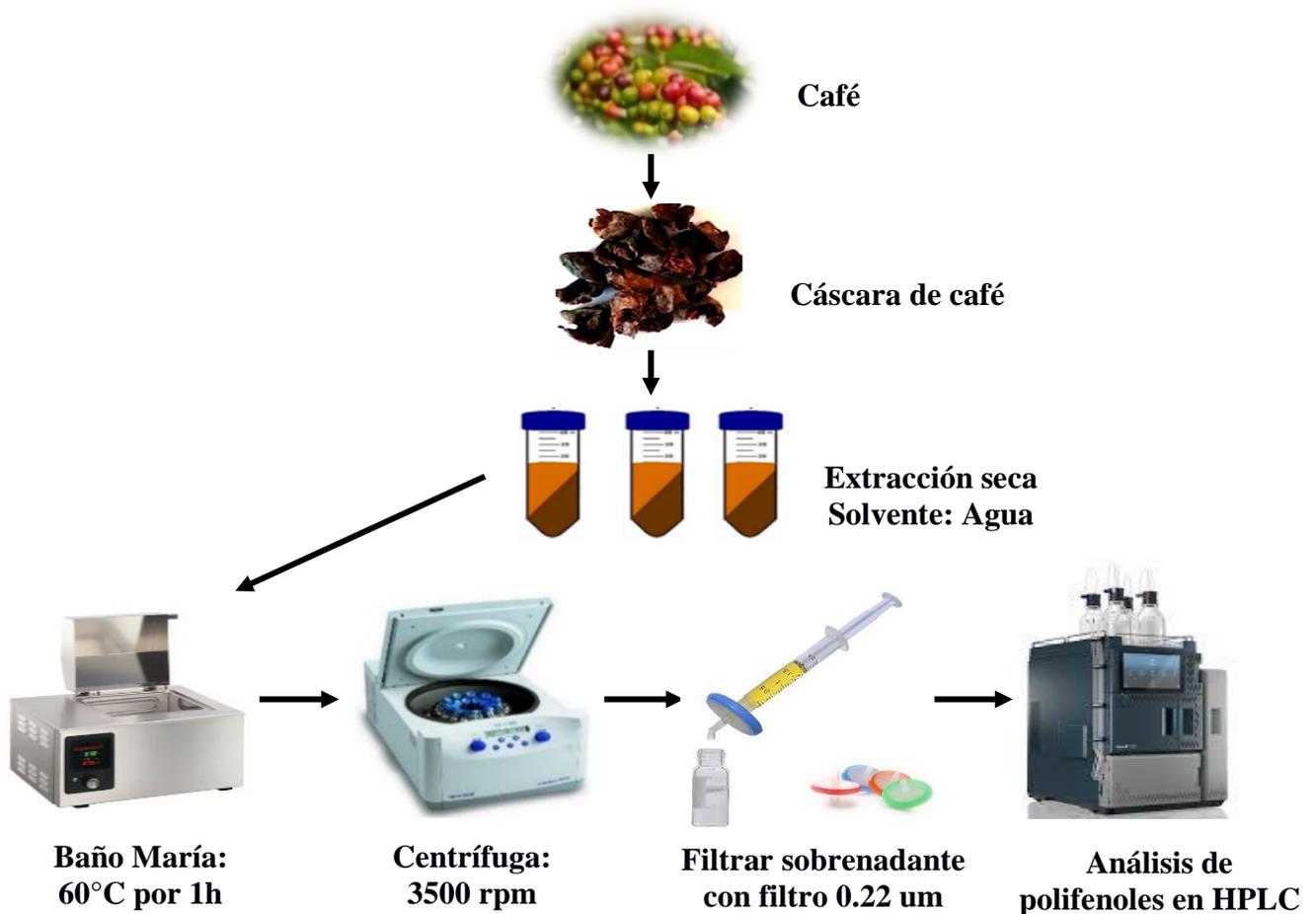
En la Figura 2.1 se muestra el diseño metodológico de esta investigación. Se realizará la preparación de muestras, seguido de una extracción utilizando agua como solvente y finalmente se realizará el análisis de compuestos polifenólicos presentes en cáscaras de café mediante cromatografía de líquidos con detector de arreglos de diodos.

2.1.2 Enfoque

La investigación se realizará para obtener información acerca de los polifenoles de la cáscara de café, por lo cual se desarrollará bajo un enfoque aplicado-cuantitativo.

Figura 2.3

Diseño metodológico de la investigación



2.1.3 Lugar de estudio

El presente trabajo de investigación se realizó entre los meses de junio a agosto 2023 en los laboratorios de Química de la FCNM y CIBE– ESPOL, Campus Gustavo Galindo; a una temperatura de 24.5°C y humedad relativa de 55%.

2.1.4 Población y Muestra

Se recolectaron un total de 11 muestras de pulpa y cáscara de café de la especie *Coffea* arábica, provenientes de distintas provincias: Manabí (temperatura anual 23.99 °C, altitud 167 m), El Oro (Piñas, temperatura anual 20.08 °C, altitud 1161 m), Loja (Catacocha, temperatura anual 17.41 °C, altitud 1887 m), Bolívar (Caluma, temperatura anual 22°C, altitud 486 m); se obtuvieron dos muestras comerciales de té de cáscara de café proveniente de Pichincha y Loja.

Tabla 2.1

Información de muestras de café (*Coffea Arábica* L. & *Coffea Canephora*)

No.	Muestra	Lugar	Lote	Especie	Variedad	Madurez	Humedad inicial %	pH	Grados Brix
1	Cáscara seca	Loja	A	C. Arábica	<i>Typica</i>	Sobre maduro	6.95	3.97	2.45
2	Cáscara fresca	Manabí		C. Arábica/ C. Canephora	<i>Typica/ Robusta</i>	Seco	8.05	4.94	1.30
3	Cascarilla molida	Piñas		C. Canephora	<i>Robusta</i>	Seco	15.12	6.73	0.90
4	Fruto húmedo	Caluma	B	C. Arábica	<i>Typica</i>	Verde amarillo	21.56	7.82	0.50
5	Cáscara seca	Loja		C. Arábica	<i>Caturra</i>	Seco	6.32	4.07	0.50
6	Fruto seco	Manabí		C. Arábica	<i>Caturra</i>	Seco	13.83	4.64	1.00
7	Fruto seco	Manabí		C. Arábica	<i>Typica</i>	Seco	12.19	6.94	1.00
8	Fruto húmedo	Manabí		C. Arábica	<i>Typica</i>	Maduro	77.12	3.58	1.70
9	Fruto húmedo	Piñas		C. Canephora	<i>Robusta</i>	Sobre maduro	81.89	3.81	1.80
10	Cáscara seca	Quito	C	C. Arábica	<i>SL 28</i>	Seco	10.84	3.54	2.65
11	Cáscara húmeda	Manabí	D	C. Arábica	<i>Kawa</i>	Sobre maduro	93.09	3.78	1.75

2.1.5 Conservación de muestras

Las muestras fueron llevadas a una temperatura de 25 °C y luego colocadas en bolsas de polietileno de baja densidad de tamaño 25x35 cm y grosor 200. Estas bolsas fueron almacenadas a una temperatura de 10 °C hasta que se iniciara el proceso de secado.

2.1.6 Operacionalización de Variables e indicadores

Tabla 2.2

Operacionalización de Variables e indicadores

Variables	Definición conceptual	Dimensión	Indicadores	Metodología
Variable independiente: Cáscara de café de la especie Coffea Arábica L.	El grano del café es como una cereza roja. Se denominará cáscara a la capa que lo recubre.	Características fisicoquímicas	Variedad de cáscara	Secado mecánico, Molienda, Filtrado
			Color	Escala Pantone
			Actividad de agua (aw)	Equilibrio de vapor
			Humedad (%)	Gravimetría
			Grados Brix	Refractómetro
			pH	Potenciómetro
Variable dependiente: Determinación de polifenoles y cafeína	Moléculas antioxidantes que se encuentran, en mayor o menor medida, en casi todas las plantas	Método para determinar polifenoles	mg/kg de base seca.	
			Moléculas:	
			Catequina	
			Epicatequina	
			Rutina	
			Naringenina	
			Apigenina	
			Quercetina	
			Kaempferol	
			p-cumárico	HPLC con detector de arreglo de diodos
Ácido clorogénico				
Cafeína				
Ácido gálico				
Ácido cafeico				
Quercetina				

2.1.7 Procesamiento de muestras

2.1.7.1 Evaluación de las condiciones de secado

Debido a que las pulpas de café tenían un alto contenido de humedad (mayor al 80%) y registraban una actividad de agua superior a 0.65, eran susceptibles a la proliferación de microorganismos y la producción de Ocratoxina A. Por consiguiente, se establecieron las condiciones necesarias para llevar a cabo el proceso de secado y determinar isotermas de adsorción. Se generaron curvas de secado a partir de la pulpa de café descongelada. El proceso de secado fue realizado por aire caliente en una estufa (modelo Memmert UM400) a temperatura de 60 °C y humedad relativa del aire de 50% en tiempos de 0, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 300 y 420 minutos.

2.1.7.2 Proceso de secado en estufa

Antes de llevar a cabo los experimentos de secado, las muestras fueron descongeladas durante toda la noche hasta alcanzar la temperatura ambiente. Se seleccionaron manualmente las cerezas de café y se redujo su tamaño con un mortero para obtener muestras homogéneas.

Figura 2.4

Proceso de despulpado del café utilizando un mortero



Se registró la masa inicial de aproximadamente 5 g de cada muestra en su estado húmedo en crisoles, utilizando una balanza analítica (modelo Aventurera™ Pro Analytical Electronic Balance, AV64C | OHAUS) para establecer una masa de control.

Figura 5.3

Pesaje de cáscaras de café en crisol



Las muestras fueron separadas en tres lotes. Se dispusieron alrededor de 50 g de cada muestra en bandejas de aluminio con un espesor aproximado de 1 cm para cada lote de secado.

Figura 6.4

Secado de cáscaras de café



Nota. Secado del Lote A en estufa a una temperatura de 60°C.

Se registró de forma periódica el peso de las muestras una vez que se enfriaron en un desecador. Se repitió el proceso hasta que las muestras alcanzaron el equilibrio higroscópico, determinado por el cambio de masa constante durante tres mediciones consecutivas.

Figura 7.5 Masa de control de cáscaras de café posterior al secado

Masa de control de cáscaras de café posterior al secado



Nota. Control de secado del Lote B

El lote A se secó durante 20 horas, se registró un contenido de agua de $1.49 \pm 0.05\%$ (d.b.) (Ilustración 2.1). El lote B fue sometido a secado continuo por un periodo de 24 horas, hasta peso constante. Se obtuvo un contenido de humedad de $1.733 \pm 0.05\%$ (db.) (Ilustración 2.2). Por otro lado, el lote C fue sometido a secado continuo por un periodo de 30 horas, hasta peso constante. Se obtuvo un contenido de humedad de $1.733 \pm 0.05\%$ (db.) (Ilustración 2.3)

Finalmente, las muestras de cáscara se envasaron al vacío en bolsas de polietileno (PE).

Figura 8.6

Secado de cáscaras de café



Figura 9.7

Lote A - Apariencia de cáscaras secas de café



Nota. El secado del Lote A fue realizado el (8/06/2023).

Figura 10.8

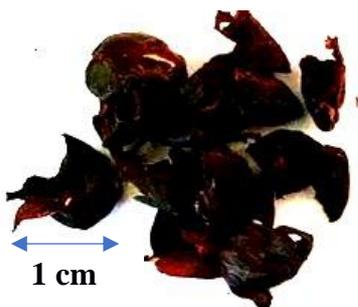
Lote B - Apariencia de cáscaras secas de café



Nota. El secado del Lote B fue realizado el (12/06/2023).

Figura 11.9

Lote D - Apariencia de cáscara seca de café



Nota. El secado del Lote D fue realizado el (4/07/2023).

2.1.7.3 Molido de muestras

Se pesaron 10 g de cáscara seca y se trituraron en un molino hasta obtener partículas más pequeñas, luego fueron colocadas en bolsas herméticas para conservar sus propiedades.

Figura 12.10

Proceso de molido de café



2.1.8 Parámetros evaluados

2.1.8.1 Determinación del porcentaje de humedad

De acuerdo con el estudio de Youcef-Ali et al. (2001), se determinó la masa final de las cáscaras de café para el cálculo de humedad (H) en base húmeda, expresada en %.

$$H = \left(\frac{m_1 - m_2}{m_1} \right) \times 100\% \quad (2.1)$$

Donde:

H = Humedad (%)

m_1 = Masa de cáscara húmeda (gH_2O)

m_2 = Masa de cáscara seca (g sólido seco)

2.1.8.2 Actividad de agua

Para medir la actividad de agua, se empleó un higrómetro de conductividad estandarizado (modelo AQUALAB) a temperatura ambiente (24.5 °C). El equipo se calibró utilizando la sal de LiCl, para mantener un rango específico de actividad de agua según el tipo de muestra analizada.

Tabla 2. 3

Valores de actividad de agua de soluciones salinas saturadas para calibración

Solución salina saturada	Lote	Temperatura (°C)	aw
LiCl (13.41 molal en H ₂ O)	1696239	25	0.250
LiCl (8.57 molal en H ₂ O)	1708148	25	0.500

Se pesaron 0.5 g de cada muestra de cáscara de café y se trituraron para exponer la mayor área superficial posible al sensor de punto de rocío con el que cuenta el equipo.

2.1.8.3 Grados Brix

Se utilizó un refractómetro manual (ATAGO-Abbe Refractometer). Siguiendo la metodología de la (Figura 2.18), posteriormente con una pipeta Pasteur se añadieron gotas de los extractos acuosos filtrados en el prisma inferior del refractómetro, asegurando contacto uniforme con la superficie de vidrio. Se realizó la medición por duplicado.

Figura 13.11

Medición de grados Brix en extractos acuosos de cáscara de café



2.1.8.4 pH

Se utilizó un pHmetro (Thermo Scientific-Orion Star A211) con una exactitud de ± 0.01 . Previamente a las mediciones, se procedió a calibrarlo utilizando soluciones de pH 4.00, 7.00 y 10.00, siguiendo las indicaciones del fabricante. Las mediciones se registraron duplicado.

Figura 14.12

Medición de pH en extractos acuosos de cáscara de café



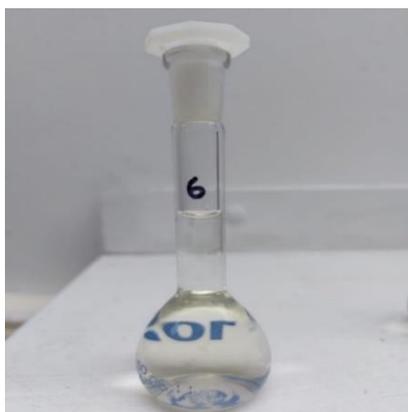
2.1.9 Calibración y preparación de muestras en análisis

2.1.9.1 Método utilizado para los Estándares

Se pesaron aproximadamente 5 mg de cada estándar (Tabla 2.5) y se colocaron en un matraz de 10 ml. Se enrasó con metanol, hasta la línea de aforo. Para evitar interferencia de luz, se cubrió el matraz con papel de aluminio.

Figura 15.13

Preparación de estándares en matraz volumétrico de 10 ml



Luego, se agitó cada sustancia en un agitador orbital shaker para lograr una mezcla uniforme, esencial para distribuir correctamente los componentes en cada estándar. Posteriormente, se transfirió cada muestra a frascos ámbar de 30 ml para minimizar la degradación de los compuestos por la luz.

Figura 16.14

Almacenamiento en frío de estándares preparados en frascos ámbar



Utilizando la información de la tabla 2.6, se realizaron los cálculos necesarios para obtener datos relacionados con las concentraciones y propiedades de los estándares preparados.

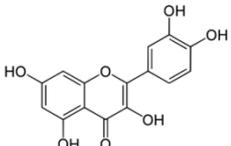
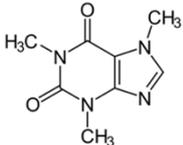
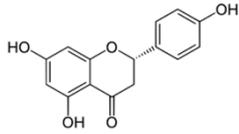
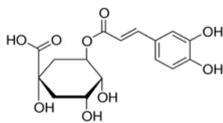
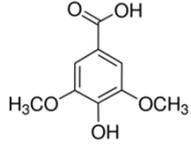
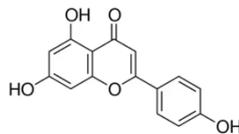
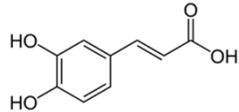
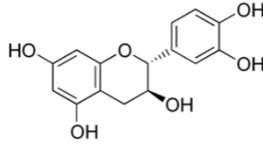
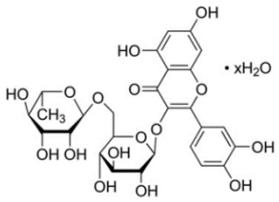
Se dosificó con precisión cada estándar utilizando una micropipeta de 1000 μl en frascos ámbar de vidrio de 2 ml para garantizar una dosificación adecuada. Luego, se completó la solución con agua destilada tipo I utilizando una micropipeta de 1000 μl para obtener el volumen necesario para el análisis por HPLC.

Figura 17.15

Dosificación de la alícuota de estándares en viales ámbar



Tabla 2. 4*Descripción exhaustiva de los estándares a emplear*

No.	Estándar	Marca del Producto	Compuestos Químicos
1	Quercetina	USP Reference Standard	
2	Cafeína	Sigma - Aldrich	
3	Naringenina 98%	SAFC	
4	Ácido clorogénico 95%	Aldrich	
5	Ácido siríngico $\geq 95\%$	Sigma	
6	Apigenina $\geq 95\%$	Sigma	
7	Ácido cafeico $\geq 99\%$	Fluka	
8	(-) - Epicatequina $\geq 90\%$	Sigma	
9	Hidrato de rutina $\geq 94\%$	Sigma	

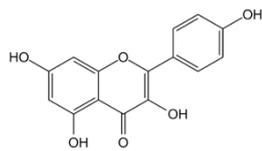
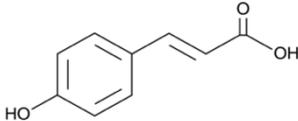
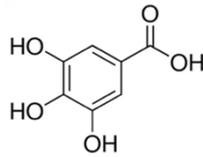
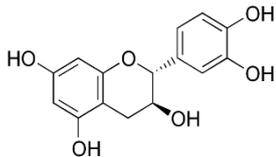
10	Kaempferol $\geq 90\%$	Sigma	
11	Ácido P-coumárico $\geq 98\%$	Sigma - Aldrich	
12	Ácido gálico monohidratado 98+%, A.C.S. Reagent	Sigma - Aldrich	
13	Catequina	Sigma - Aldrich	

Tabla 2. 5

Características y concentraciones de los estándares

Preparar estándares	Masa (mg)	Matraz metanol (ml)	Solución estándar stock		Solución trabajo (mg/L)	Alícuota (uL)	Agua tipo 1 (uL)	Volumen final (uL)
			Concentración (mg/L)					
Quercetina	5.7	10	570		17.544	982.4256	10000	
Cafeína	7.09		709.2		14.100	985.900		
Naringenina	4.9		490		20.408	979.592		
Ácido clorogénico	4.9		490		20.408	979.592		
Ácido siríngico	4.75		475		21.053	978.947		
Apigenina	3.71		370.5		26.991	973.009		
Ácido cafeico	4.26		425.7		23.491	976.509		
Epicatequina	4.23		423		23.641	976.359		
Rutina	5.17		517		19.342	980.658		
Kaempferol	2.25		225		44.444	955.556		
P-coumarico	5.19		519.4		19.253	980.747		
Ácido gálico	6.66		666.4		15.006	984.994		
Catequina	4		400		25.000	975.000		

2.1.9.2 Condiciones cromatográficas

El análisis cromatográfico se llevó a cabo utilizando un sistema Arc HPLC marca Waters con detector de arreglo de diodos. La fase móvil consistió en una mezcla de ácido fórmico al 0,1 % en agua (A) y ácido fórmico al 0,1 % en metanol (B), con un flujo de 1 ml/min durante todo el gradiente y un volumen de inyección de 10 μ L.

La columna cromatográfica empleada fue una ZORBAX Eclipse XDB-C18, con dimensiones de 4.6 \times 150 mm y una fina capa de película de 5 μ m. La temperatura de la columna se mantuvo constantemente a 33°C, mientras que la temperatura de la muestra se mantuvo estable a 20 °C.

La evaluación de la concentración de polifenoles y cafeína se realizó midiendo la absorbancia a una longitud de onda de 280 nm y 320nm (UV) del extracto acuoso previamente diluido. Este enfoque se basó en la absorbancia característica de la estructura núcleo bencénico presente en estos compuestos, permitiendo una identificación precisa y cuantificación de las muestras analizadas. En todas las muestras, se obtuvo la concentración final de los compuestos promediando los resultados de tres inyecciones consecutivas.

Figura 18.16

Equipo HPLC marca Waters



2.1.9.3 Capacidad de selección o especificidad

Para analizar la capacidad del método cromatográfico, se inyectó un solvente y luego una mezcla de estándares para calcular sus tiempos de retención, confirmados mediante espectro de masas. Los tiempos de retención de los polifenoles se encuentran en la Tabla 2.7.

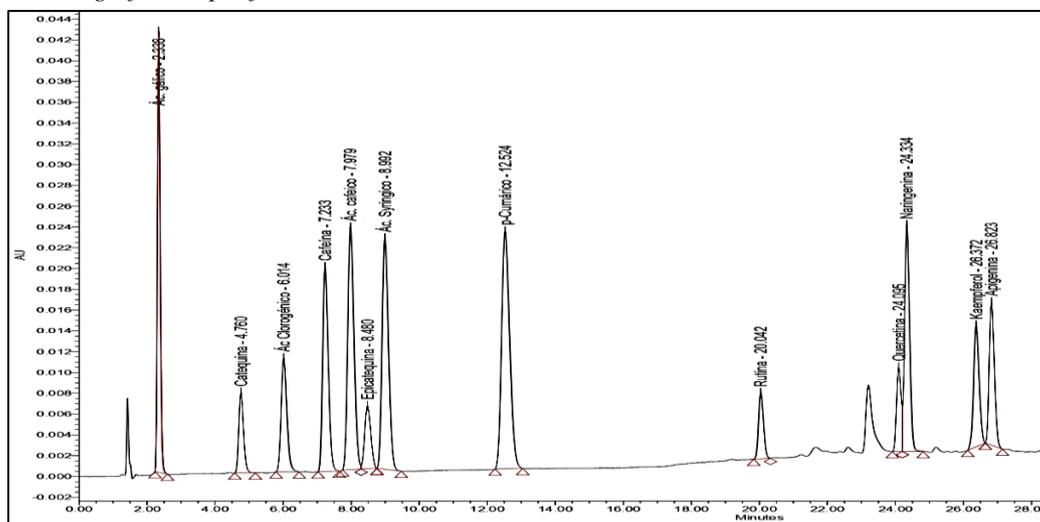
Tabla 2. 6

Tiempo de retención y longitud de onda de los estándares

Estándar	Tiempo de retención (min)	Longitud de onda máxima (nm)
Quercetina	27.405	365
Cafeína	7.622	274
Naringenina	27.650	277
Ácido clorogénico	9.519	325
Ácido sirínico	9.556	274
Apigenina	5.976	212, 269, 337
Ácido cafeico	8.581	318.7
Epicatequina	9.212	280
Rutina	21.521	257
kaempferol	4,946	365, 265
Ácido p-coumarico	13.432	298.4
Ácido gálico	2.423	270
Catequina	5.131	276

Figura 19.17

Perfil cromatográfico de polifenoles



Nota. Los picos corresponden a (1) ácido gálico; (2) catequina; (3) ácido clorogénico; (4) cafeína; (5) ácido cafeico; (6) epicatequina; (7) ácido sirínico; (8) p-cumárico; (9) rutina; (10) quercetina; (11) naringenina; (12) kaempferol; (13) apigenina.

2.1.9.4 Curva de calibración

Se tomaron los estándares previamente preparados y se realizaron los cálculos correspondientes para determinar la cantidad de microlitros de cada estándar en la preparación de una solución de trabajo de 20 mg/l, tal como se indica en la tabla 2.8.

Tabla 2. 7 Alícuota de los estándares a una concentración de 20mg/l

Alícuota de los estándares a una concentración de 20mg/l

Preparar estándares	Masa (mg)	Solución estándar stock	Solución de trabajo (mg/L)	Alícuota (uL)	Agua tipo 1 (uL)	Volumen final (uL)
Concentración (mg/L)						
Quercetina	5.7	570	20	350.877	9649.123	10000
Cafeína	7.09	709.2		282.008	9717.992	
Naringenina	4.9	490		408.163	9591.837	
Ácido clorogénico 98%	4.9	490		408.163	9591.837	
Ácido siríngico	4.75	475		421.053	9578.947	
Apigenina	3.71	370.5		539.811	9460.189	
Ácido cafeico	4.26	425.7		469.814	9530.186	
Epicatequina	4.23	423		472.813	9527.187	
Rutina	5.17	517		386.847	9613.153	
kaempferol	2.25	225		888.889	9111.111	
Ácido p-cumárico	5.19	519.4		385.060	9614.940	
Ácido gálico	6.66	666.4		300.120	9699.880	
Catequina	4	400		500.000	9500.000	

Después de obtener la cantidad de volumen de cada estándar, se colocaron las alícuotas (μl) calculadas en matraces volumétricos de 5ml y 10 ml, los cuales fueron aforados con agua tipo I para obtener una solución mix madre con concentración de 20 ppm.

A partir de esta solución se formó cinco diluciones a concentraciones de: 0.1, 0.5, 1, 5, 10 [mg/l]. Cada una de estas diluciones se colocó en sus respectivos matraces y se enrasó con agua tipo I, siguiendo las cantidades descrito en la tabla 2.9. Las mismas fueron inyectadas en el equipo HPLC para la construcción de las curvas de calibración para la cuantificación de flavonoides.

Figura 20.18

Preparación de soluciones estándar para curva de calibración



Nota. Concentraciones de 20,10, 5, 1, 0.5 [mg/l] (izquierda a derecha).

Tabla 2. 8 Alícuota de las diferentes concentraciones

Alícuota de las diferentes concentraciones

Matraces (ml)	Concentraciones (mg/l)	Alícuota (uL)	Agua tipo 1 (uL)
5	10	2500	2500
5	5	1250	3750
5	1	250	4750
5	0.5	125	4875
10	0.1	50	9950
10	0.05	25	9975

El objetivo de este procedimiento fue evaluar la relación entre la concentración de la sustancia analizada y la respuesta del método de análisis utilizado (HPLC). Realizar este procedimiento de dilución y preparación de las curvas de calibración fue esencial para obtener resultados precisos y confiables, como se observa en la tabla 2.10.

Tabla 2. 9 Resultados cuantitativos de los diferentes estándares por HPLC

Resultados cuantitativos de los diferentes estándares por HPLC

Estándar	Método de Procesamiento	R	R ²	Ecuación
Quercetina	Polifenoles 280 nm	0.997968	0.995939	$Y = 1.12x10^4x - 5.26x10^3$
Cafeína		0.998578	0.997158	$Y = 2.30x10^4x - 4.88x10^3$
Naringenina		0.999087	0.998174	$Y = 3.29x10^4x - 5.62x10^3$
Ácido clorogénico		0.999195	0.998391	$Y = 1.51x10^4x - 2.21x10^3$
Ácido siríngico		0.999135	0.998271	$Y = 3.34x10^4x - 3.54x10^3$
Apigenina		0.998609	0.997219	$Y = 3.56x10^4x - 8.08x10^3$
Ácido cafeico		0.998835	0.997671	$Y = 2.97x10^4x - 4.72x10^3$
Epicatequina		0.997340	0.997340	$Y = 7.49x10^3x - 7.16x10^2$
Rutina		0.998158	0.998158	$Y = 6.36x10^3x - 7.79x10^2$
Kaempferol		0.997985	0.995974	$Y = 1.78x10^4x - 6.26x10^3$
Ácido p-cumárico		0.998881	0.997763	$Y = 4.77x10^4x - 7.91x10^3$
Ácido gálico		0.998841	0.997684	$Y = 2.49x10^4x - 4.80x10^3$
Catequina		0.998971	0.997943	$Y = 7.37x10^3x - 1.02x10^3$

Se llevó a cabo un análisis de regresión lineal empleando los datos presentes en la tabla 2.10, donde se obtuvo una curva de calibración y se determinaron ecuaciones que establecen la relación entre una variable dependiente "y" (absorbancia) y una variable independiente "x" (concentración de los estándares en m/l).

Los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) instrumentales fueron calculados a partir de una curva de calibración específica utilizando la desviación estándar de la respuesta (Sy/x) de la respuesta y la pendiente (b) de la curva, en un rango de 0,05 a 1 mg/L. Se determinó la media de las concentraciones de los cuatro patrones analizados.

La obtención de la desviación estándar de la respuesta (SD) puede realizarse partiendo de la desviación estándar de las intersecciones y las líneas de regresión. Es pertinente resaltar que los valores de $S_{y/x}$, la pendiente (b) y la ordenada pueden ser obtenidos mediante el uso de la función ESTIMACION.LINEAL en Excel.

$$LDI = \frac{S_{\frac{y}{x}}}{b} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{N} + \frac{\bar{x}^2}{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}} \quad (2.2)$$

Donde:

$S_{\frac{y}{x}}$ = error tipo de la curva

b = pendiente

m = número de patrones utilizados para construir la curva

N = número total de patrones de calibrado

x_i = cada una de las concentraciones de patrones

\bar{x}^2 = media de la concentraciones de patrones

El cálculo del Límite de Cuantificación Instrumental (LCI) se definió como 3.3 veces el valor del Límite de Detección Instrumental (LDI).

$$LCI = 3.3(LDI) \quad (2.3)$$

Se determinaron los límites LOD y LOQ del método analítico, considerando un volumen de agua de 10 ml y un peso nominal de 0.5 kg en todas las muestras.

$$LDM = \frac{LDI * V_{blanco}}{\text{peso de muestra}} \quad (2.4)$$

$$LCM = \frac{LCI * V_{blanco}}{\text{peso de muestra}} \quad (2.5)$$

2.1.9.5 Obtención del extracto acuoso de la cáscara de café.

Para la obtención del extracto acuoso, se utilizó la metodología propuesta por (Silva, M.d.O., 2021) con modificaciones. Con el fin de mantener un control preciso y reproducible, se procedió a realizar el pesaje por triplicado de aproximadamente 0.5 gramos de muestra de cáscara de café en un tubo vortex con capacidad de 15 ml, tal como se muestra en la tabla 2.11.

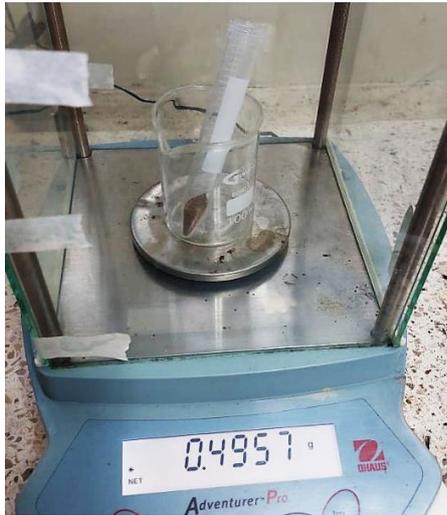
Tabla 2. 10 Datos de peso de las muestras

Datos de peso de las muestras

Muestra	Peso (g)		Muestra	Peso (g)	
Loja	1.1.-	0.5271	Manabí	6.1.-	0.5232
	1.2.-	0.5118		6.2.-	0.5144
	1.3.-	0.5164		6.3.-	0.5123
Manabí	2.1.-	0.4923	Manabí	7.1.-	0.5019
	2.2.-	0.5054		7.2.-	0.5317
	2.3.-	0.4980		7.3.-	0.4939
Piñas	3.1.-	0.5261	Manabí	8.1.-	0.5303
	3.2.-	0.4887		8.2.-	0.4927
	3.3.-	0.5391		8.3.-	0.5110
Caluma	4.1.-	0.4958	Piñas	9.1.-	0.5015
	4.2.-	0.4965		9.2.-	0.5317
	4.3.-	0.5821		9.3.-	0.5378
Loja	5.1.-	0.5402	Quito	10.1.-	0.5387
	5.2.-	0.5005		10.2.-	0.5087
	5.3.-	0.5378		10.3.-	0.5013
Portoviejo			11.1.-	0.5399	
			11.2.-	0.4820	
			11.3.-	0.5435	

Figura 21.19

Pesaje por triplicado de molido de café en tubo vortex



A continuación, se añadieron con precisión 10 ml de agua destilada a cada tubo, asegurando así una proporción adecuada de líquido por gramo de muestra. Para garantizar una adecuada mezcla y homogeneización de los componentes, los tubos fueron sometidos a un proceso de agitación en un agitador orbital, proporcionando las condiciones ideales para que los elementos se combinen de manera uniforme y completa.

Una vez finalizados los pasos anteriores, se procedió a llevar a cabo una etapa de calentamiento de todas las muestras. Estas fueron colocadas en un baño maría a una temperatura constante de 60 °C, permitiendo que el proceso de extracción de los componentes deseados de la cáscara de café se llevara a cabo de manera óptima. El tiempo de calentamiento se estableció en 60 minutos, asegurando así una adecuada liberación y solubilización de los compuestos de interés.

Después de la fase de calentamiento, las muestras fueron sometidas a un proceso de centrifugación utilizando un equipo de alta calidad (BIOBASE). La centrifugadora fue ajustada a una velocidad de 3500 rpm, y se llevó a cabo durante un tiempo de 10 minutos, manteniendo la temperatura constante en 30 °C.

Este procedimiento permitió una separación efectiva del sobrenadante, que contiene los componentes extraídos, de los residuos sólidos que se habían acumulado durante el proceso de calentamiento. Como resultado, se obtuvo una muestra líquida clara y libre de impurezas.

El siguiente paso crucial consistió en el filtrado del sobrenadante obtenido después de la centrifugación. Este proceso de filtración se llevó a cabo utilizando un filtro con un tamaño de poro de 0.22 μm , garantizando la retención de cualquier residuo o partícula indeseable que pudiera estar presente. De esta manera, se aseguró la obtención de un extracto líquido puro y limpio, listo para ser utilizado en etapas posteriores del proceso. (Figura 2.18.)

Figura 22.20

Remoción de la cáscara seca del café usando agua destilada



2.1.9.6 Cuantificación de cafeína y polifenoles en extractos de cáscara de café

Utilizando la curva de calibración de cada estándar, se determinó la cantidad de polifenoles y cafeína presentes en los extractos de las cáscaras de café a diferentes concentraciones.

Se inyectó 1 ml de cada muestra filtrada por triplicado en frascos ámbar para su posterior análisis mediante HPLC y se realizó la identificación de las sustancias de interés mediante la comparación de los tiempos de retención (t_R) asociados a los picos detectados en las soluciones patrón con los t_R de los picos registrados en el cromatograma de las muestras utilizando el software EMPOWER3. (Figura 2.21).

Figura 23.21

Análisis de muestras de café por HPLC



2.1.10 Análisis estadísticos

Todas las muestras extraídas individualmente (n=11) se analizaron por triplicado. Los resultados se presentaron como la media \pm desviación estándar (SD). Se empleó un mapa de calor para llevar a cabo el análisis de varianza entre dos factores, y se estableció el coeficiente de Pearson con un nivel de significancia de $p < 0,01$. Se realizó el análisis de componentes principales (PCA) de los 10 fitoquímicos cuantificados mediante Python; excepto la naringenina, apigenina y kaempferol que no fueron detectados.

Capítulo 3

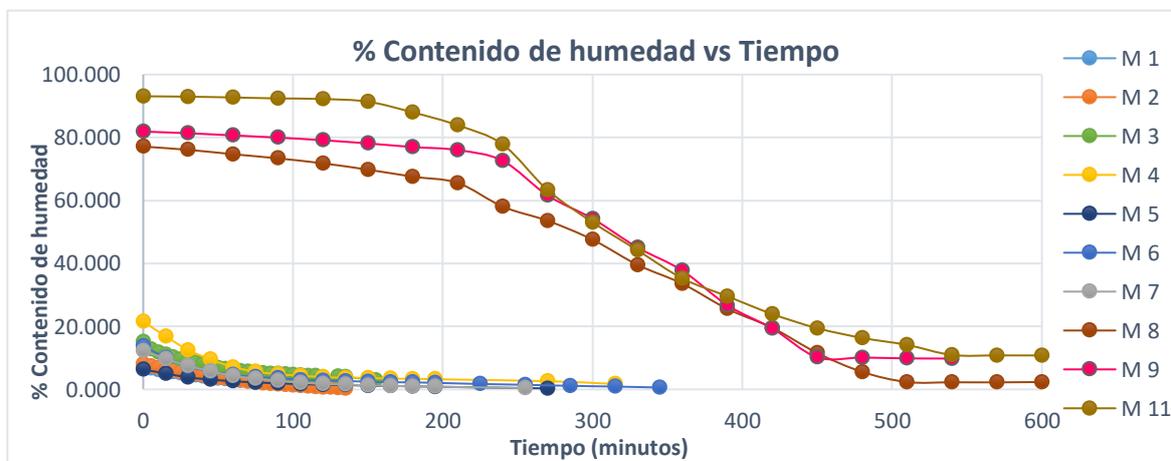
3.1 Resultados y análisis

3.1.1 Secado de cáscaras de café

El proceso de deshidratación de las cáscaras húmedas parte con una pérdida inicial de humedad superficial en función del tiempo, manifestando un comportamiento no lineal en el peso hasta alcanzar el equilibrio higroscópico. La gráfica de secado muestra fases ligeramente inusuales debido a la resistencia interna de las cáscaras al liberar agua. Al final, se logró humedad en rangos de 0.29% a 10.79% (bs), sugiriendo viabilidad para alcanzar niveles de humedad comparables a hierbas para infusión comercial (10%) (Velásquez et Álvarez, 2014)

Figura 3. 1

Contenido de humedad vs Tiempo



3.1.2 Actividad de agua en cáscaras de café

La mínima actividad de agua (A_w) para el crecimiento de la Ochratoxina A en el café es de 0,76 – 0,87. Los valores obtenidos de las muestras están por debajo del límite, lo cual sugiere que las condiciones no son propicias para el desarrollo de esta toxina. (Fajardo et Sanz, 2013)

Tabla 3. 1

Resultados de la actividad de agua presentes en cáscaras de café

N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Lugar	Loja	Manabí	Piñas	Caluma	Loja	Manabí	Manabí	Manabí	Piñas	Quito	Manabí
A_w	0.36	0.18	0.54	0.24	0.16	0.24	0.15	0.26	0.25	0.15	0.53

3.1.3 pH de cáscaras de café

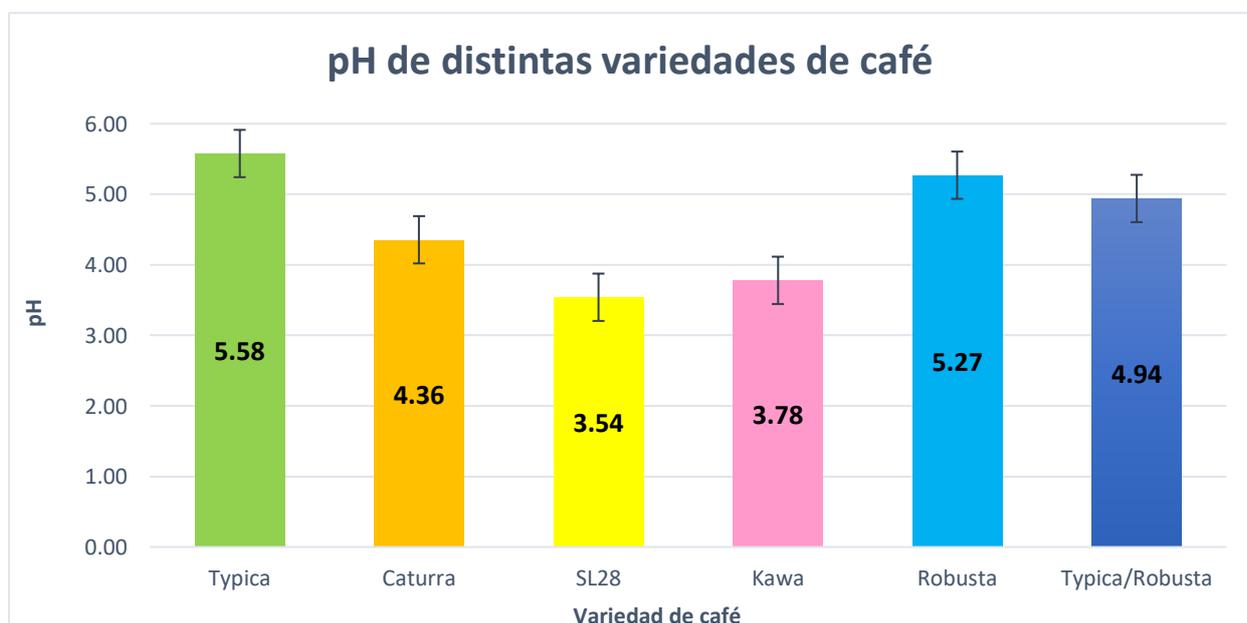
En una investigación llevada a cabo por (Valencia et al., 2015) se identificaron variaciones en los niveles de pH en varios tipos de café, oscilando entre 4.9 y 5.2, se observa que son valores muy similares a los obtenidos en el presente estudio.

La variedad SL28, obtenida por lavado, presentó el pH más bajo (3.54). La alteración en el nivel de pH se origina por el proceso de tostado, ya que a medida que este tratamiento avanza con el tiempo, puede aumentar la fermentación de los azúcares, lo que resulta en una reducción del valor del pH. Por otro lado, la variedad con mayor valor de pH 5.58 corresponde a la Typica, seguido de la Robusta con pH 5.27. Esto se debe a que, en procesos de tostado más prolongados para obtener granos más oscuros, el pH incrementa debido a la degradación de los ácidos formados (Wang et Lim, 2012).

Basado en el contexto del mercado, se puede inferir que la muestra con el pH más bajo está vinculada con una variedad de café de precio superior al aplicar un proceso de tratamiento como el lavado, mientras que la muestra con pH más elevado se asocia a las variantes de café más económicas utilizadas en este estudio.

Figura 3. 2

pH de distintas variedades de cáscaras de café



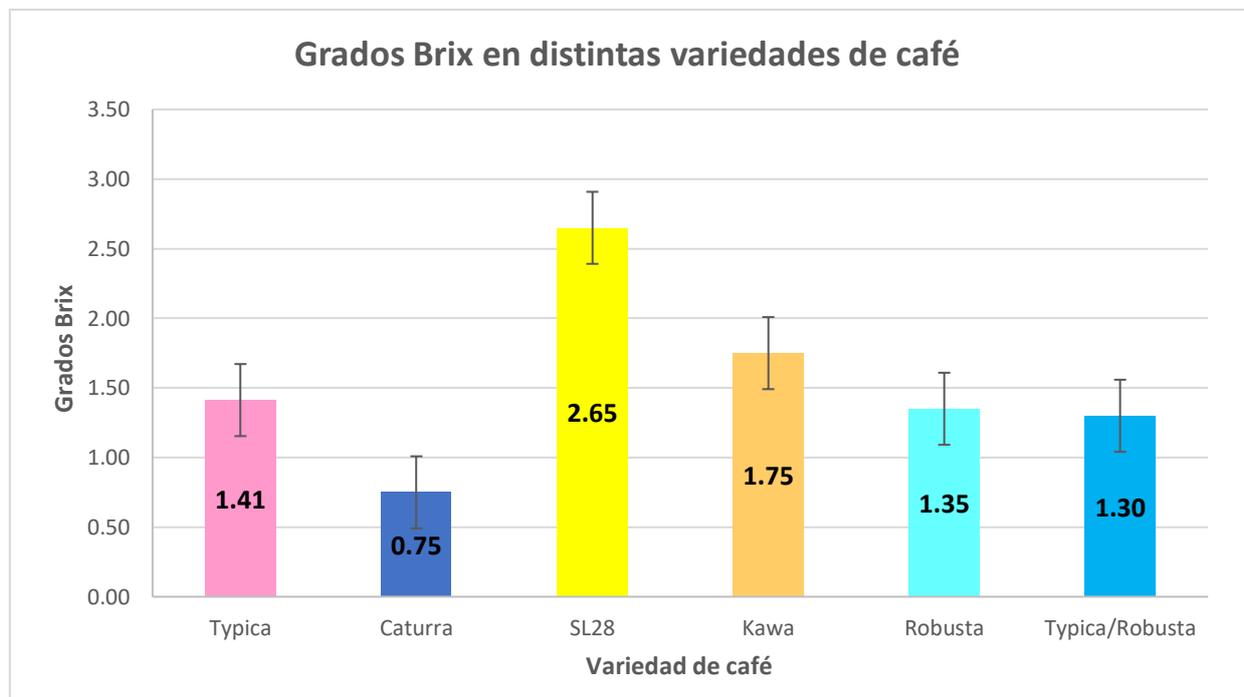
3.1.4 Grados Brix en cáscaras de café

La medición de los Sólidos Solubles Totales se utiliza para determinar el nivel de TSS en diferentes tipos de pulpa de café antes de realizar la infusión de la cáscara. Los resultados revelaron un contenido de sólidos solubles totales de 1.45 °Brix para la cáscara de café arábica y de 1.33 °Brix para la cáscara de café robusta.

Según (Borem et al, 2016) los TSS de las cáscaras de café arábica y robusta están influenciados por el contenido de ácidos orgánicos, aminoácidos y carbohidratos. Se sugiere que los sólidos disueltos en los productos del café tendrían un impacto en el sabor y aroma del té de cáscara resultante.

Figura 3. 3

Grados brix en distintas variedades de cáscaras de café



3.1.5 Cuantificación de polifenoles y cafeína en cáscaras de café

Los ácidos fenólicos, flavonoides y cafeína fueron identificados por la comparación de los tiempos de retención de los picos en los cromatogramas con los valores obtenidos a partir de estándares puros. Sin embargo, al analizar el perfil de absorción espectral de la solución mix durante el escaneo inicial, se visualizaron picos de absorbancia superpuestos, lo que dificultó la lectura precisa del cromatograma.

Con el objetivo de minimizar estas interferencias y maximizar la sensibilidad del método, se realizó un escaneo individual de cada estándar y se eligió 2 longitudes de onda de 280 nm y 320 nm, donde la mayoría de estas moléculas absorbe la radiación UV-VIS (C.Clamenti, 2007).

Las curvas de calibración resultantes para cada patrón presentaron una alta linealidad con valores del coeficiente de determinación $R^2 > 0.995$, indicando una relación directa entre la respuesta analítica y la concentración de polifenoles en las cáscaras de café. (Ramos, 2020).

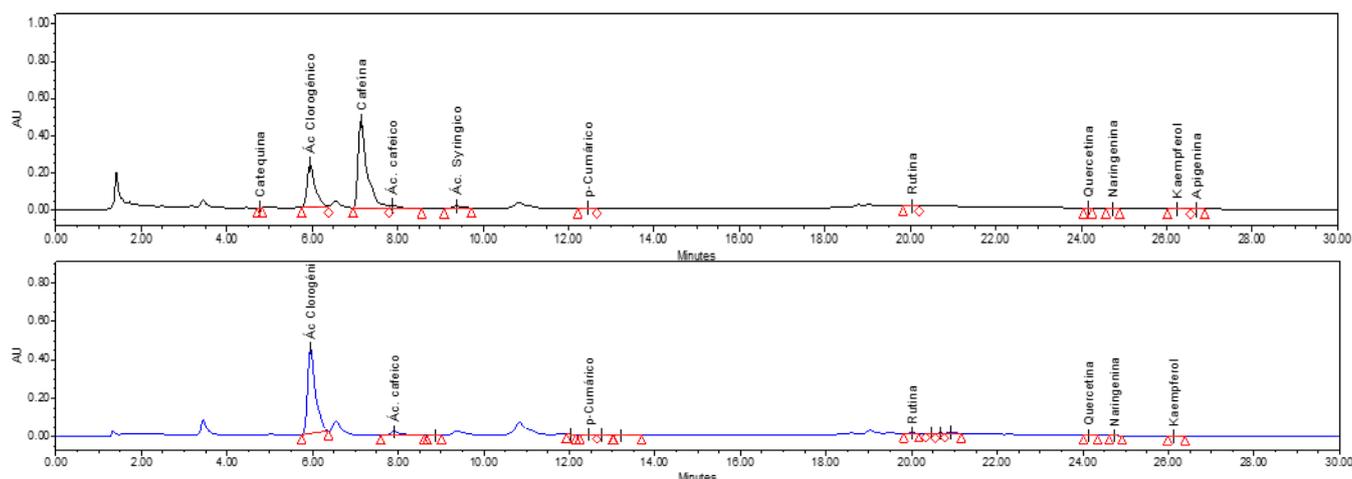
Para la cuantificación de los compuestos de interés, los extractos secos se disolvieron en agua ultrapurificada. (Thouri et al, 2017) destacan la influencia de la polaridad del solvente en la extracción de polifenoles. Es decir, dado que la solubilidad de los compuestos fenólicos depende en gran medida de la naturaleza química de la muestra y de la polaridad del disolvente utilizado para extraerlos, se optó por el agua debido a su alta polaridad.

También se observó que la deshidratación de la muestra proporcionó una mayor concentración de compuestos bioactivos en los extractos. (Pereira et al., 2017) señalan que la deshidratación de la materia prima promueve una mayor liberación de compuestos fenólicos. No obstante, el uso exclusivo de agua puede introducir impurezas en el extracto, lo que podría interferir en la precisión de la cuantificación.

De esta manera, el análisis mediante HPLC logró identificar los 13 compuestos empleados en este estudio, de los cuales diez de ellos predominaron en las 11 muestras.

Figura 3. 4

Perfil cromatográfico de muestras a 280nm y 320nm



Con la finalidad de determinar la concentración mínima de analito que puede detectar el equipo utilizado se estudiaron parámetros como el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ). Los valores de estos límites están condicionados tanto por la naturaleza del compuesto como por la efectividad de la extracción, la composición de la muestra y la eficiencia del instrumento cuando la concentración del analito es nula. (Shoemaker, J.A et al, 2018)

Tabla 3. 2

Límites de detección (LOD) y Límites de cuantificación (LOQ)

Compuesto	Instrumental		Método	
	LDI (mg/L)	LCI (mg/L)	LDM (mg/kg Bs)	LCM (mg/kg Bs)
Ácido Clorogénico	0.0319	0.1051	0.6374	2.1036
Ácido cafeico	0.0183	0.0603	0.3656	1.2067
Apigenina	0.0109	0.0361	0.2188	0.7223
Kaempferol	0.0381	0.1256	0.7611	2.5116
Naringenina	0.0116	0.0383	0.2323	0.7668
Cumárico	0.0157	0.0517	0.3133	1.0341
Rutina	0.0911	0.3007	1.8227	6.0149
Quercetina	0.0301	0.0993	0.6023	1.9875
Cafeína	0.0262	0.0864	0.5241	1.7298
Catequina	0.0248	0.0818	0.4962	1.6374
Epicatequina	0.0843	0.2782	1.6865	5.5656
Siríngico	0.0197	0.0651	0.3946	1.3024
Ácido gálico	0.0172	0.0568	0.3446	1.1374

La Tabla 3.1 y Tabla 3.2 detalla los principales compuestos fenólicos hallados en los extractos de cáscara de café, y los resultados se expresan en unidades de mg/kg de base seca.

Se logró cuantificar la epicatequina, ácido gálico y cafeico en al menos 6 de las muestras, pero en concentraciones inferiores. Además, la cuantificación de kaempferol, apigenina y naringenina no fue posible en los límites de cuantificación del método.

El compuesto que prevaleció en los extractos fue la cafeína, con cantidades que variaron entre 1375.243 mg/kg Bs y 7222.940 mg/kg; así como el ácido clorogénico, con cantidades que variaron entre 36.31 mg/kg Bs y 4244.59 mg/kg Bs. No obstante, estos valores son inferiores en relación con los que se han registrado en la literatura para el ácido clorogénico (7800 mg/Kg Bs).

Pacheco M. et al. indican que esto puede deberse a que solo se ha reportado el contenido de ácido 5-O-cafeoilquínico, cuando normalmente se informa sobre el contenido los ACG totales (alrededor de 7 en cáscaras de café).

Además, se observa que el contenido de ácido sirínico en una de las muestras supera el valor registrado en la literatura (290 mg/kg Bs). Esta disparidad podría deberse a factores como las condiciones de altitud, la variedad y el tipo de procesamiento del café.

De acuerdo con estudios que han cuantificado la mayoría de los compuestos que son objeto de este análisis, reportan que las cáscaras de café contienen aproximadamente 8500 mg/kg Bs de polifenoles. Este valor difiere en un 31.92% respecto al resultado experimental obtenido, esta ligera variación se ve favorecida por el secado de las cáscaras, pues el aumento de temperatura incide de forma proporcional en el contenido de polifenoles.

Es probable que las diferencias en los niveles de compuestos bioactivos en las cáscaras de café entre los distintos estudios se deban a las diferencias en las variedades, cultivares, fuentes geográficas y condiciones de crecimiento, así como en los métodos de extracción empleados.

Tabla 3. 3*Validación y comparación de los compuestos de ácidos fenólicos en la cáscara de café*

Grupo	Concentración		Muestras										
	Desviación estándar		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Ácidos fenólicos	Ácido Clorogénico	mg/kg Bs	36.31	1449.58	1420.21	3284.37	1806.38	516.31	957.37	353.98	625.72	4244.59	72.21
		DE	2.878	195.767	281.983	1116.006	140.844	82.171	47.036	6.175	123.179	562.077	4.890
	Ácido Cafeico	mg/kg Bs	8.558	33.969	16.897	111.222	100.662	81.558	24.684	60.348	14.013	14.352	10.840
		DE	0.547	2.792	0.784	28.927	38.827	7.242	0.179	1.895	4.760	2.076	1.597
	P-cumárico	mg/kg Bs	8.107	7.908	14.806	15.113	14.496	14.242	20.898	5.981	18.522	19.495	21.872
		DE	0.412	2.603	8.483	1.620	2.963	0.982	0.340	0.023	4.029	0.525	3.319
	Ácido Gálico	mg/kg cáscara seca	Nd	10.542	723.831	Nd	19.535	6.646	Nd	6.012	46.812	51.819	23.101
		DE	-	1.191	3.197	-	0.47842	0.27504	-	0	7.544	2.436	3.381
	Siríngico	mg/kg cáscara seca	6.621	4.235	3270.488	146.950	7.086	3.108	3.891	Nd	5.643	59.543	5.009
		DE	0.248	1.029	0.180	50.441	2.195	0.269	0.088	-	2.831	6.695	0.214

Nota. Los resultados se presentan como media \pm desviación estándar (DE). El símbolo "Nd" denota que no se detectó el compuesto.

Tabla 3. 4*Validación y comparación del contenido del flavonoides y cafeína en la cáscara de café*

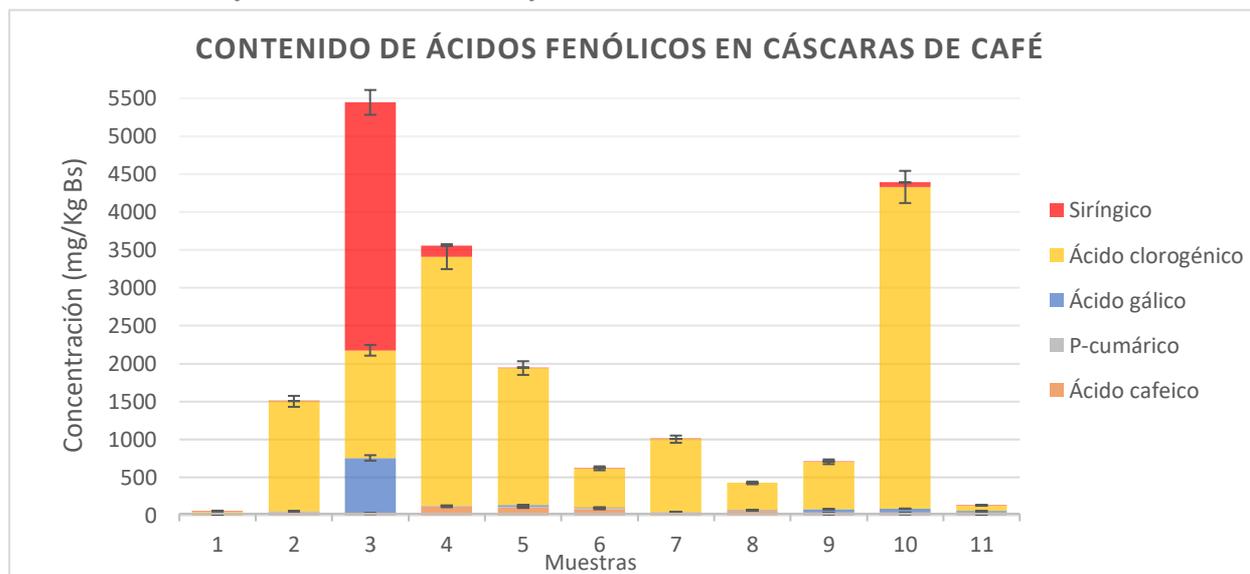
Grupo	Concentración		Muestras											
	Desviación estándar	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
Flavonoides	Rutina	mg/kg Bs	69.268	53.664	223.633	63.678	25.222	46.010	31.029	22.575	14.532	429.371	17.969	
		DE	52.808	1.146	4.054	14.758	1.708	19.167	1.338	2.280	5.291	56.554	7.018	
	Quercetina	mg/kg Bs	Nd	7.063	19.979	16.134	9.723	Nd	11.259	Nd	Nd	17.314	Nd	
		DE	-	6.119	1.060	3.036	0.336	-	0.095	-	-	0.977	-	
	Catequina	mg/kg Bs	37.795	83.053	70.712	5.544	5.604	629.433	7.802	Nd	27.536	50.234	201.801	
		DE	1.460	7.449	6.022	2.353	0.590	38.530	0.182	-	2.980	7.343	7.200	
	Epicatequina	mg/kg Bs	Nd	6.874	16.634	Nd	Nd	12.042	4.963	Nd	14.521	29.934	Nd	
		DE	-	2.348	0.206	-	-	4.979	0.583	-	1.675	3.060	-	
	Xantinas	Cafeína	mg/kg Bs	1375.243	1661.137	3270.488	5431.081	4993.510	5083.954	5148.474	7222.940	5711.394	4397.340	5850.887
			DE	112.385	155.869	130.824	985.371	410.351	517.377	728.343	73.723	707.627	57.507	157.065

Nota. Los resultados representan la media \pm DE para promedio $n= 3$ experimentos independientes. El símbolo "Nd" denota que no se detectó el compuesto.

3.1.5.1 Ácidos fenólicos, Flavonoides y cafeína

Figura 3. 5

Contenido de ácidos fenólicos en cáscaras de café



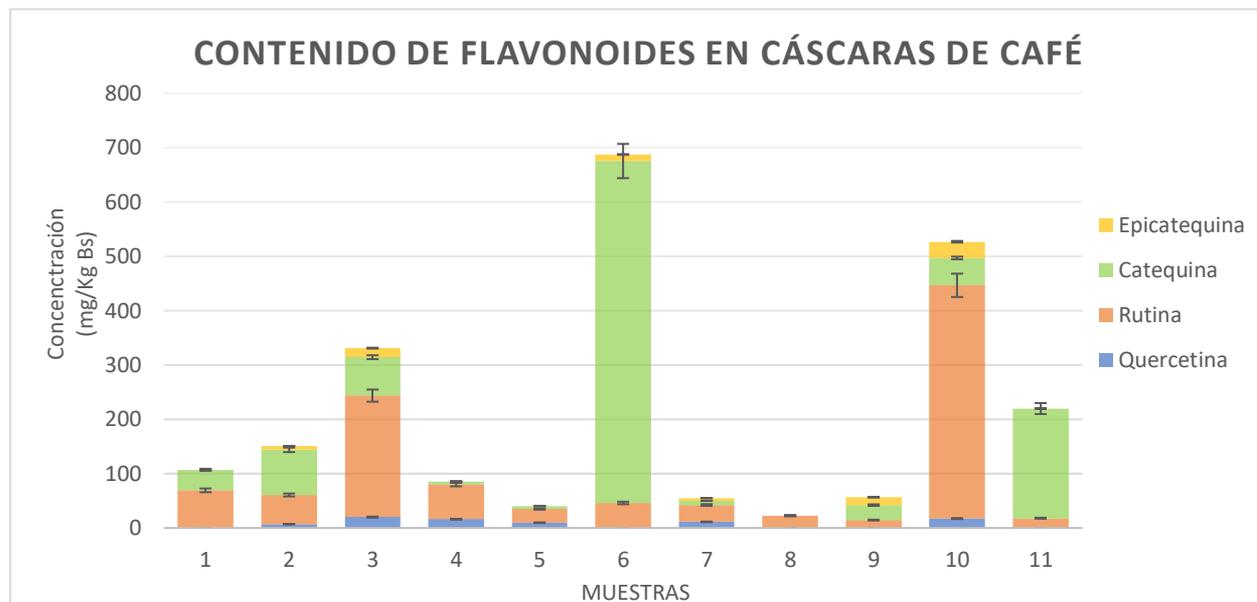
En relación con el ácido clorogénico, un poderoso antioxidante, tuvo la concentración más alta en la muestra 10. Este perfil se atribuyó a la especie *C. arábica* (var. *SL28*) proveniente de Quito, con 4244.59 ± 562.077 mg/kg Bs.

El ácido cafeico se mantuvo en un rango similar en las muestras 4, 5 y 6 de Caluma, Loja y Manabí, con valores de 81.558 - 111.222 mg/kg Bs, dado que son de la especie *C. arábica*. A pesar de esta tendencia, su variabilidad puede ser influenciada por métodos de cultivo y grado de madurez de las cáscaras recolectadas. (Gauthier et al., 2016). Por otro lado, el p-cumárico exhibió una desviación estándar relativamente baja, lo que indica una mayor uniformidad en las concentraciones entre las distintas muestras, fluctuando entre 5.981 – 21.872 mg/kg Bs.

Se identificó una concentración constante y relativamente de ácido gálico y siríntrico en la muestra 3, proveniente de la especie *C. canephora* (var. *Rusta*) del cantón de Piñas. Estos ácidos mostraron porcentajes de $(723.831 \pm 3.197$ mg/kg Bs) y 3270.488 ± 0.180 mg/kg Bs respectivamente, lo que sugiere propiedades antioxidantes y antiinflamatorias notables.

Figura 3. 6

Contenido de flavonoides en cáscaras de café



Dentro de los flavonoides, destacan las concentraciones de rutina en las muestras 3 y 10.

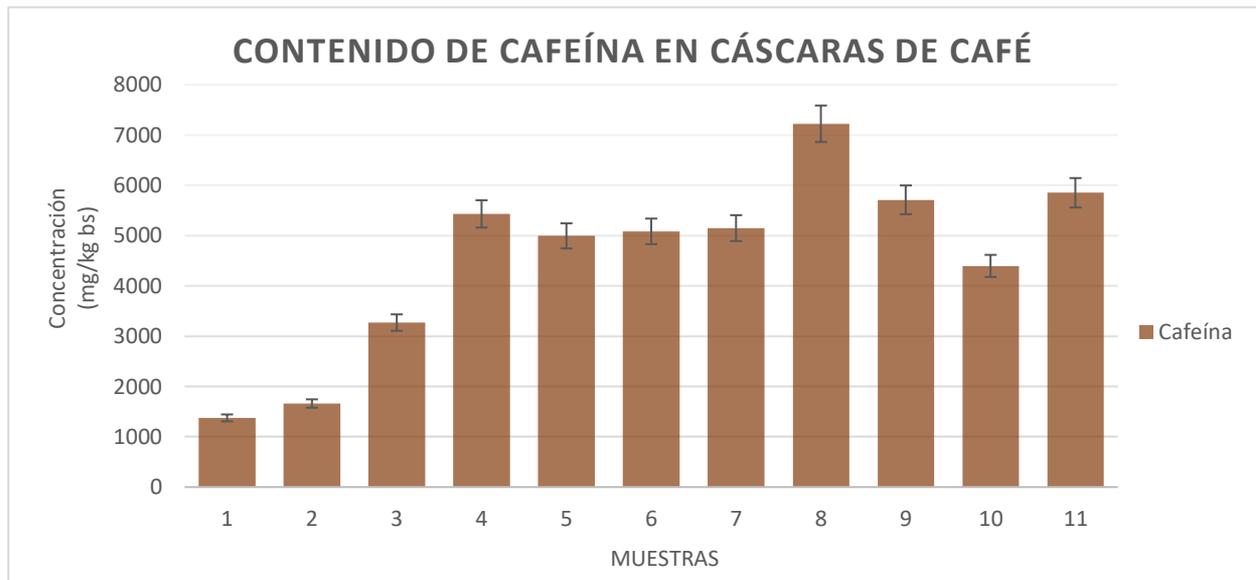
La muestra 10, proveniente de la especie *C. arábica* (*var. SL28*) de Quito, registró la concentración más alta con 429.371 ± 56.554 mg/kg Bs. Este compuesto es reconocido por sus beneficios en el aumento de la energía y el bienestar mental, y control de peso (Amaretti A et al., 2015).

En contraste, las concentraciones de quercetina fueron más bajas en comparación con los ácidos fenólicos mencionados antes. Estos valores oscilaron entre 7.063 y 19.979 mg/kg Bs, siendo la muestra 3 de la especie *C. canephora* la que tuvo la concentración más alta, con 19.979 ± 1.060 mg/kg Bs. Cabe destacar que esta especie de café es conocida por sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias. (Cheraghi E et al., 2021).

Se detectó la presencia de catequina y epicatequina, en algunas muestras, mientras que en otras no se lograron cuantificar. Esto podría atribuirse a las condiciones de cultivo a las que estuvieron sometidas. Por ejemplo, en zonas altas a 1800 m.s.n.m., el cultivo de café es más lento, tomando 34 y 36 semanas para la cosecha. En cambio, en áreas de menor altitud, de 1100 m.s.n.m., el desarrollo es más rápido, culminando en 28 a 30 semanas (Salazar et al., 2006).

Figura 3.7

Contenido de cafeína en cáscaras de café



En la figura 3.3, se puede observar que todas las muestras exhibieron concentraciones en un rango comprendido entre 1350 y 7300 mg/kg de base seca (Bs), acompañadas por una desviación estándar significativamente alta.

Específicamente, se identificó que la muestra 1 registró una menor cantidad de cafeína, con un valor de 1375.243 ± 112.385 mg/kg Bs, y se originó de la especie *C. arábica* (var. *Typica*) de la ciudad de Loja. En comparación con las muestras 4, 5, 6, 7, 8, 10 y 11, las cuales proceden de la misma especie y presentaron concentraciones de cafeína similares, siendo 4, 7 y 8 (var. *Typica*), 5 y 6 (var. *Caturra*), 10 (var. *SL28*) y 11 (var. *Kawa*).

Esta variación en las concentraciones de cafeína podría estar relacionada con el nivel de madurez de las cáscaras, lo que subraya la importancia de considerar las condiciones de crecimiento y desarrollo de las muestras en el análisis de los resultados (Zheng et al., 2004).

3.1.5.2 Comparación de compuestos polifenoles y cafeína con otros estudios

Tabla 3. 5

Resultados de ácidos fenólicos obtenidos del presente trabajo en comparación a otros estudios

Ácidos fenólicos (mg/kg de Bs)	(Freire & Ortiz, 2023)											(Elsawy & Serag, 2021)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
Ácido Gálico	Nd	10.542	723.831	Nd	19.535	6.646	Nd	6.012	46.812	51.819	23.101	19.78
Siríngico	6.621	4.235	3270.488	146.950	7.086	3.108	3.891	Nd	5.643	59.543	5.009	290
Ácido clorogénico	36.31	1449.58	1420.21	3284.37	1806.38	516.31	957.37	353.98	625.72	4244.59	72.21	7800
P-Cumárico	8.107	7.908	14.806	15.113	14.496	14.242	20.898	5.981	18.522	19.495	21.872	18.91
Ácido cafeico	8.558	33.969	16.897	111.222	100.662	81.558	24.684	60.348	14.013	14.352	10.840	15.87

Tabla 3. 6

Resultados de flavonoides obtenidos del presente trabajo en comparación a otros estudios

Flavonoides (mg/kg de Bs)	(Freire & Ortiz, 2023)											(Porrás, 2021)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
Epicatequina	Nd	6.874	16.634	Nd	Nd	12.042	4.963	Nd	14.521	29.934	Nd	1.8
Catequina	37.795	83.053	70.712	5.544	5.604	629.433	7.802	Nd	27.536	50.234	201.801	6.0
Naringenina	Nd	Nd	Nd	<LOQ	Nd	<LOQ	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	0.5

Tabla 3. 7

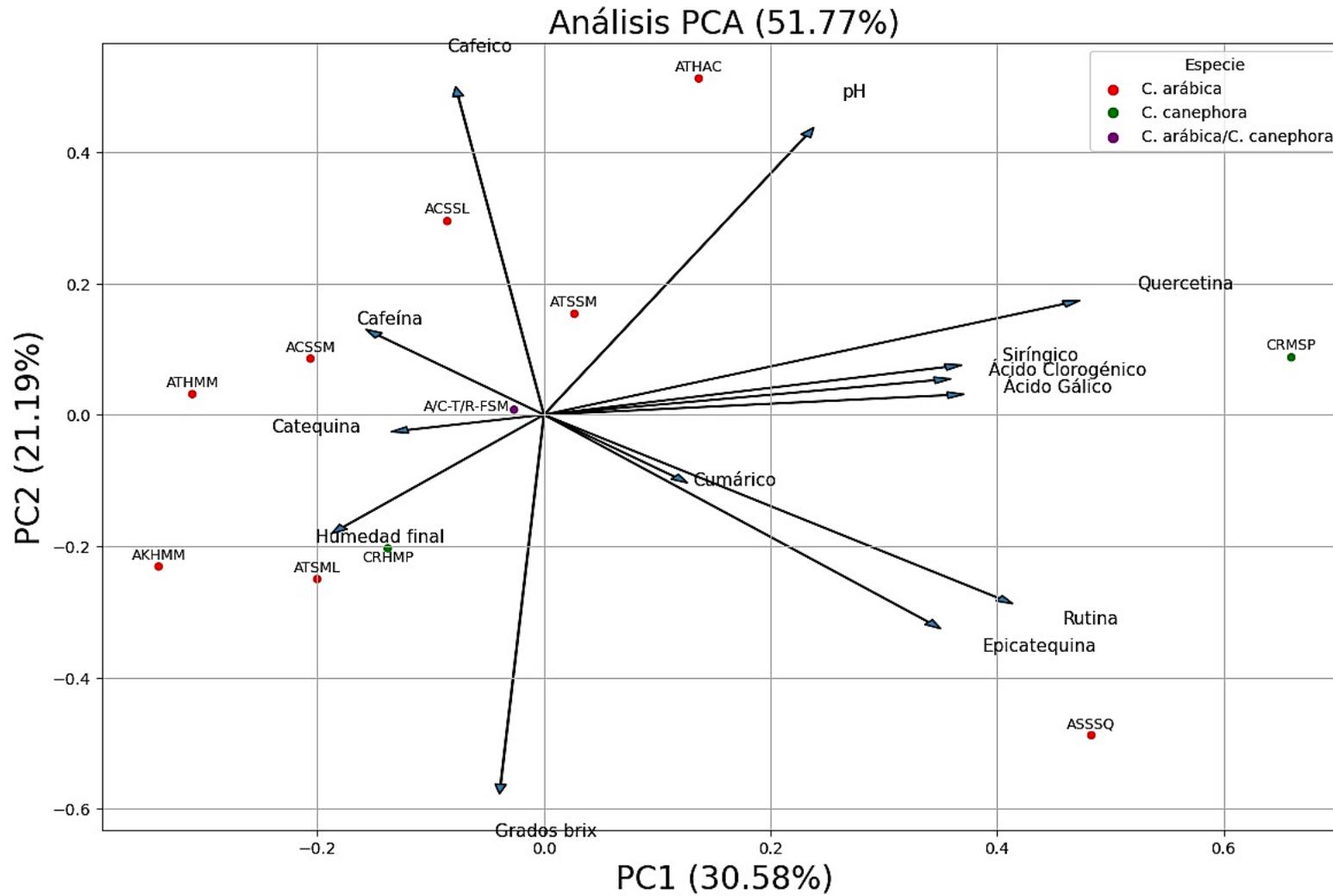
Resultados de cafeína obtenidos del presente trabajo en comparación a otros estudios

Cafeína (mg/kg de Bs)	(Freire & Ortiz, 2023)											(Elsawy & Serag, 2021)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
Cafeína	1375.243	1661.137	3270.488	5431.081	4993.510	5083.954	5148.474	7222.940	5711.394	4397.340	5850.887	1820

3.1.6 Estudio estadístico mediante análisis de componentes principales y ANOVA multifactorial

Figura 3. 8

Análisis PCA



Se realizó un análisis de componentes principales para explicar la variabilidad de 10 fitoquímicos entre los 11 extractos acuosos de la cáscara de café. Los datos mostraron una agrupación marcada debido a su origen compartido en un país específico. No obstante, la diversidad geográfica de las distintas provincias de procedencia de los cultivares de café, causó fluctuaciones en los niveles de cafeína y ácido clorogénico.

Los dos primeros componentes principales, PC1 (30.58%) y PC2 (21.19%), explicaron el 51.77% de la varianza total. El componente principal PC1 exhibió un impacto positivo en la mayoría de los polifenoles cuantificados por HPLC (ácido gálico, sirínico, ácido clorogénico, cumárico, epicatequina, rutina y quercetina). A excepción del ácido cafeico, catequina y cafeína que se relacionan con el segundo componente principal PC2.

Además, se observó que otros parámetros importantes para la evaluación, como el pH, la humedad y los grados brix, presentaban una relación inversa o una tendencia a disminuir a medida que aumentan los valores de PC2.

La gráfica reveló un mayor impacto de cafeína en ATHMM, ACSSL y ACSSM, relacionadas con la especie *C. arábica* (var. *Typica*, y *Caturra*), provenientes de Manabí y Loja. Sin embargo, se identificó una carencia de niveles óptimos de ácidos fenólicos y flavonoides.

A diferencia de ASSSQ (*C. arábica*, SL28, Quito) y CRMSP (*C. canephora*, Robusta, Piñas), los cuales reportaron el menor contenido de cafeína, ácido cafeico y catequina dentro de un gran rango de variación (Figura 3.8), esto condujo a una buena agrupación de las muestras.

No obstante, ambos presentaron niveles significativos de compuestos polifenólicos. En el caso de ASSQ, se evidenció una mayor incidencia de cumárico, rutina y epicatequina. Por otro lado, se indicó la presencia de ácido sirínico, ACG, ácido gálico y quercetina en CRMSP.

A partir de este análisis, se determinó que la composición fitoquímica del café cáscara estaba influenciada por el tipo de cultivo de café y por el lugar de origen.

A pesar de que las muestras ATHMM, ACSSM y ACSSL se originaron de diversos cultivares de café, mostraron una agrupación significativa en el análisis (Figura 3.8), lo que sugiere similitudes en los compuestos fitoquímicos. Esto podría deberse al hecho de que dos de los cultivares de café se recolectaron en la misma provincia (Manabí, Figura 3.8) y se sometieron al mismo proceso de elaboración (proceso natural).

Esto implica que el impacto del tipo de cultivo en los fitoquímicos podría verse mitigado por factores comunes del lugar (principalmente geografía, clima y suelo), el método de procesamiento de un mismo cultivar y el grado de madurez. No obstante, no se puede descartar completamente la posibilidad de que los dos cultivares de café (Caturra, Typica) tuvieran una composición fitoquímica similar desde el inicio.

Otro aspecto significativo fue el impacto del contenido de humedad de la materia prima, es decir, el uso de la cáscara deshidratada hizo que los compuestos presentes en la cáscara de café se concentraran más al eliminar el contenido de agua. Mientras que la muestra con mayor contenido de humedad (*var. Kawa*) no estaba relacionada con los compuestos fenólicos.

Se emplearon correlaciones de Pearson para analizar la relación entre los parámetros *in vitro* y los compuestos fenólicos cuantificados mediante HPLC. Las relaciones resultantes se representaron en un gráfico de calor (Figura 3.9).

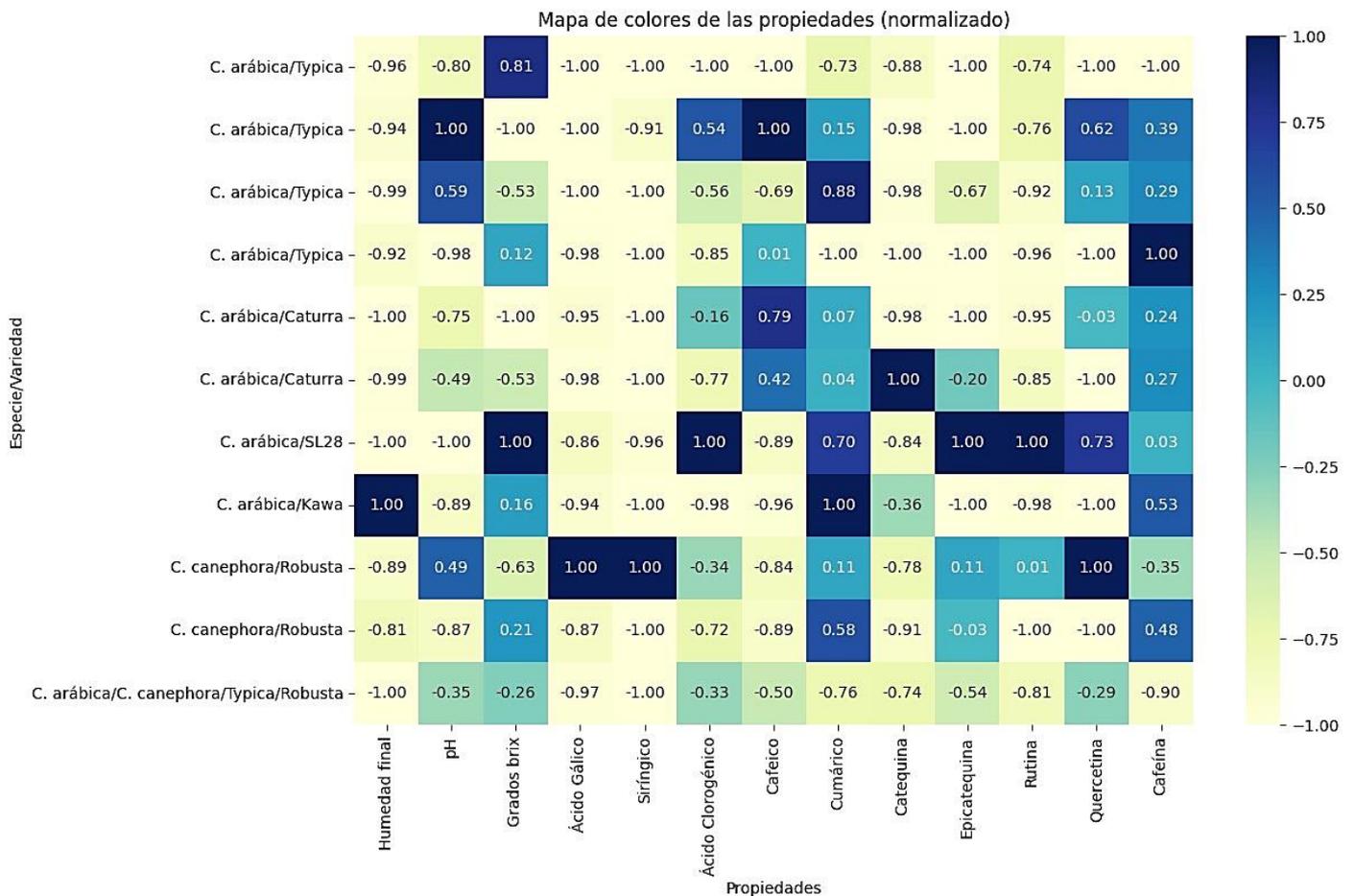
La especie *C. arábica* (*var. SL28*) se correlacionó fuertemente con la concentración de ácido clorogénico, epicatequina y rutina ($r = 1$, $p < 0.01$). El ácido p-cumárico también mostró una fuerte asociación con las variedades Typica ($r = 0.88$, $p < 0.01$), SL28 ($r = 0.70$, $p < 0.01$) y Kawa ($r = 1$, $p < 0.01$).

La suma de flavonoides mostró fuerte asociación con la especie arábica ($r = 0.9674$, $p < 0.01$). Además, la suma de la concentración de todos los compuestos fenólicos individuales presentó una significativa ($p < 0.01$) correlación ($r = 0.8444$) con la variedad Robusta.

Se observaron diferencias estadísticas significativas con relación al pH ($p < 0.0001$). Los polifenoles son compuestos ácidos debido a la presencia de grupos fenólicos y carboxilos (Ocampo et al., 2008). Investigaciones han evidenciado que existe una degradación oxidativa de estos compuestos en ambientes alcalinos, mostrando mayor estabilidad a pH por debajo de 5.0 (Boza et al., 2000). La variedad SL28 presentó el pH más ácido, lo que permitió que los polifenoles mantuvieran una mayor concentración y estabilidad en su comportamiento.

Figura 3. 9

Mapa de calor de compuestos fitoquímicos en cáscaras de café

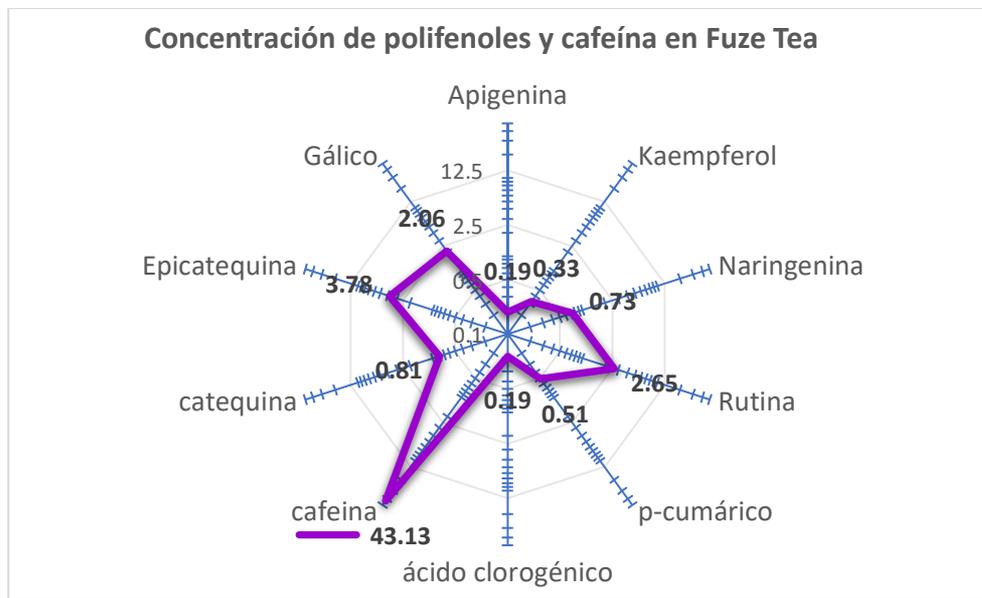


3.1.7 Propuesta de producto

En el dinámico panorama del mercado del café, donde la adaptación a las cambiantes preferencias de los consumidores es clave, la caracterización del extracto acuoso de la cáscara revela oportunidades para crear bebidas funcionales. En este contexto, se analizó una bebida de té (Fuze tea) disponible en el mercado para corroborar la hipótesis planteada. (Figura 3.10).

Figura 3. 10

Contenido de Polifenoles y cafeína en Fuze Tea



A partir de la caracterización de la bebida de té comercial, se validó la factibilidad de proponer una bebida basada en la infusión de cáscaras de café debido a la similitud en su contenido de fitoquímicos. Sin embargo, se determinó que su contenido de cafeína en el té comercial era considerablemente mayor al de las cáscaras, alcanzando los 43.13 mg/L.

En relación con los resultados obtenidos, es importante señalar que la literatura existente sobre la caracterización fisicoquímica de la cáscara de café deshidratada, lista para la infusión, es muy limitada. No obstante, se tomó en consideración la norma INEN 2304:2017 que establece especificaciones para bebidas no carbonatadas, elaboradas principalmente a base de agua, con adición de pulpas, té, hierbas aromáticas, extractos y aditivos alimentarios.

A partir de los datos proporcionados, se determinó que la especie *C. arábica* (var. *Typica*) de Manabí era la selección más adecuada debido a su alta concentración de cafeína, que alcanzó los 7222.940 mg/Kg. Se constató que los requisitos fisicoquímicos para el Fuze tea y el extracto de cáscara cumplen con las regulaciones establecidas por el Instituto Ecuatoriano de Normalización, como se detalla en la Tabla 3.9.

Tabla 3. 8

Características y contenido de cafeína del Fuze tea y Muestra

	Mínimo	Máximo	Fuze tea	Extracto de cáscara
pH	2.0	4.5	3.1	3.5
°Brix (%)	0	15	0.6	1.7
Cafeína (mg/L)	33.8	50.7	43.13	43.08

Para la determinación del contenido de cafeína en la bebida propuesta, la bebida de té comercial (Fuze Tea) permitió dimensionar la magnitud de los valores hallados de manera experimental. Considerando que el volumen de la bebida era de 550 ml, se determinó que la cantidad total de cafeína en ese volumen equivalía a 23.72 mg/ml.

Para obtener el mismo nivel de cafeína en volumen de 550 ml, se calculó la cantidad de cáscara de café necesaria, lo cual resultó en un promedio de 3.28 gramos por bebida, como se muestra en la Tabla 3.9. Esto implica que, a partir de 1 kg de cáscara de café, se podría producir aproximadamente alrededor de 250 bebidas.

Adicionalmente, la bebida propuesta a partir de los extractos de cáscara de café deshidratada presenta un beneficio significativo para el consumidor al aportar un contenido de polifenoles de aproximadamente 0.21 mg/g. Esta cifra se destaca en comparación con los valores reportados para la leche y el chocolate (1.2 mg/g), café en grano (0.2 mg/g), vino blanco (2.4 mg/g), cerveza regular (0.5 mg/g) y té helado de limón (0.08 mg/g). (Porras, 2021)

En el ámbito de la planificación financiera, la Tabla 3.10 detalla el presupuesto desglosado para la producción de infusiones a partir de 10 kg de cáscara de café, resaltando dos componentes esenciales: los costos laborales y los costos de alquiler de maquinaria.

Los costos laborales ascienden a \$80.50, correspondiendo al 57% del presupuesto, enfatizando la importancia de las tareas manuales como recolección y empaque, donde la eficiencia y capacitación del personal influyen en la calidad y costos del producto final.

Por otro lado, los costos de alquiler de maquinaria representan el 44.3% del presupuesto y requieren una gestión precisa que abarca elección adecuada de equipos y planificación cuidadosa del tiempo de uso.

Tabla 3. 9

Presupuesto para la elaboración de la bebida propuesta

Presupuesto Elaboración Infusión de café (10 Kg cáscara)			
Mano de obra	Horas Trabajo	Valor Hora	Total
Recolección	2	\$ 6.00	\$ 12.00
Despulpado	1	\$ 5.00	\$ 5.00
Secado	24	\$ 2.00	\$ 48.00
Selección	1	\$ 6.00	\$ 6.00
Molido	1	\$ 4.00	\$ 4.00
Empaque	1	\$ 5.50	\$ 5.50
Subtotal			\$ 80.50
Alquiler Maquinaria, Planta y Equipo			
Ítems	Hora Alquiler	Valor Hora	Total
Agricultor	1	\$ 8.00	\$ 8.00
Despulpadora	1	\$ 8.00	\$ 8.00
Secador solar	24	\$ 2.00	\$ 48.00
Subtotal			\$ 64.00
Total			\$ 144.50

En conjunto, estos costos desglosados benefician a las comunidades cafeteras al generar empleo y contribuir a la sostenibilidad económica de la región. Además, promueven prácticas de gestión eficiente y planificación estratégica. El presupuesto total de \$144.50 representa una inversión significativa para estas comunidades, fortaleciendo su economía local.

Dentro del marco de esta investigación, es relevante señalar que la adquisición de 1 kilogramo (kg) de cáscara de café que se encontró en un mercado que trabaja con café de especialidad tiene un costo estimado de \$20. Esta tasa por unidad de peso de cáscara de café será empleada como parámetro de referencia en los análisis y cálculos posteriores relativos a los costos de producción y la evaluación de la viabilidad económica de las operaciones correlacionadas.

En la Tabla 3.11, se detallan los ingresos generados por la comercialización de infusiones de cáscara de café, así como por la venta de cáscara de café por kilogramo. Estas ventas van dirigidas hacia los principales segmentos de mercado del sector alimentario.

Tabla 3. 10

Costo de materiales directos e insumos

Ítems	Cantidad	Valor total	Insumos requeridos	Costo unitario
Cáscara de café	1 kg	\$ 20	4 g	\$ 0.080
Agua	1 L	\$ 0.50	550 ml	\$ 0.250
Botella de plástico	550 ml	\$ 0.10	1	\$ 0.100
Azúcar	1 kg	\$ 1.30	25 g	\$ 0.033
Hielo purificado	2.5 kg	\$1.60	275 g	\$ 0.176
Total materiales directos				\$ 0.639

El costo total de los materiales directos para la elaboración y embotellado se estima en aproximadamente 64 centavos. Lo que representa como una propuesta accesible para el disfrute cotidiano. Además, la presencia abundante en polifenoles, compuestos reconocidos por sus propiedades antioxidantes, añaden un valor nutricional significativo en cada sorbo.

Capítulo 4

4.1 Conclusiones y recomendaciones

4.1.1 Conclusiones

Con el propósito de proponer diversas alternativas para productos alimenticios a partir del aprovechamiento de cáscaras deshidratadas de café, basadas en la cuantificación de polifenoles y cafeína mediante cromatografía líquida de alta resolución HPLC, se llevó a cabo un estudio con 11 muestras provenientes de diferentes provincias, especies y variedades en Ecuador; la información proporcionada respalda que:

Para desarrollar la metodología de laboratorio, se proporcionó una descripción exhaustiva de cada uno de los pasos necesarios para obtener polifenoles a través de la deshidratación de café y llevar a cabo su cuantificación correspondiente. El procedimiento empleado involucra la extracción y cuantificación de polifenoles y cafeína mediante HPLC. La metodología implementada se adhiere a las pautas establecidas por la norma ISO 17025, que establece los requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y calibración. Estos requisitos abarcan desde la gestión de calidad hasta la ejecución técnica de actividades de ensayo y calibración.

Mediante el método cromatográfico de líquidos con detectores de arreglos de diodos, se identificaron los compuestos principales como el ácido clorogénico (14.767 mg/g Bs), ácido sirínico (3.513 mg/g Bs), catequina (1.119 mg/g Bs) y cafeína (50.146 mg/g Bs), con valores promedio en las 11 muestras analizadas. Las cáscaras de café presentaron niveles moderados de rutina (0.996 mg/g Bs), ácido gálico (0.888 mg/g Bs) y ácido cafeico (0.477 mg/g Bs), mientras que las concentraciones más bajas de compuestos fenólicos se observaron en quercetina (0.085 mg/g Bs), epicatequina (0.085 mg/g Bs) y ácido p-cumárico (0.161 mg/g Bs).

El análisis de componentes principales proporcionó una discriminación precisa de las cáscaras de café basada en su variedad y lugar de origen en términos de composición de compuestos fitoquímicos. La cafeína mostró un mayor impacto en la especie *C. arábica*, mientras que la especie *C. canephora* presentó altos niveles de polifenoles. Además, la deshidratación de las cáscaras de café condujo a una mayor concentración de estos compuestos. Por consiguiente, los resultados del extracto acuoso de las cáscaras de café indican que pueden ser empleadas en la industria de alimentos para crear productos funcionales. Esto se debe a que es una fuente natural de agentes antioxidantes que previene y reduce enfermedades crónicas como el cáncer y afecciones relacionadas con el envejecimiento celular. Por lo tanto, la bebida de infusión es una opción muy prometedora en el mercado que además contribuye con una ingesta diaria recomendada de flavonoides, que oscilaba alrededor de los 23 mg/día.

4.1.2 Recomendaciones

Para futuras investigaciones, se sugiere llevar a cabo un análisis similar al estudio actual, pero con modificaciones en los procedimientos de extracción sólido-líquido de los compuestos bioactivos y la elección de diferentes tipos de café. Esto se hace con el propósito de determinar cuál método de extracción resulta ser el más efectivo en la obtención de los compuestos y qué variedad de café produce una mayor cantidad o rendimiento de compuestos polifenólicos.

Al realizar la extracción de compuestos bioactivos de las cáscaras de café, es fundamental controlar con precisión el tiempo de extracción para lograr una separación óptima de los compuestos, evitando al mismo tiempo gastos excesivos de solvente y energía.

En caso de excederse en el tiempo de extracción de los compuestos, se sugiere la inclusión de agentes reductores en el solvente de extracción para preservar la integridad de los compuestos extraídos y mitigar los efectos adversos, como la oxidación de los polifenoles. Con el fin de contrarrestar las reacciones de oxidación en las células, se recomienda llevar a cabo investigaciones centradas en los compuestos antioxidantes, ya que estas reacciones generan radicales libres que pueden influir en el sabor y el aroma de la bebida final.

Sería recomendable realizar pruebas piloto de infusión de cáscara de café con el propósito de evaluar los perfiles de sabor y aroma en diferentes muestras. Estos análisis permitirán obtener una comprensión profunda de cómo los compuestos presentes en la cáscara influyen en la experiencia sensorial al consumir la bebida.

Por otra parte, sería necesario efectuar un análisis exhaustivo de los compuestos químicos encontrados en este subproducto del café, tales como aminoácidos, compuestos nitrogenados, ácidos volátiles y no volátiles, con el propósito de fortalecer las aplicaciones de la cáscara de café y sus constituyentes en los sectores agroindustriales, tanto alimentarios como no alimentarios

Bibliografía

- Amaretti A, R. S. (14 de Apr de 2015). *Hydrolysis of the rutinose-conjugates flavonoids rutin and hesperidin by the gut microbiota and bifidobacteria*. Obtenido de Nutrients.: 7(4):2788-800. doi: 10.3390/nu7042788.
- ANECAFÉ. (2019). *Exportaciones de Café del Ecuador según variedad - Años 1992/2019*. Manta: ANECAFÉ. Obtenido de <https://www.anecafe.org.ec/local/public/galeria/Resumen%20de%20Exportaci%C3%B3n%20Seg%C3%BAAn%20Variedad%20-%201992-2018.pdf>
- Arias Ortiz, R. &. (2016). *Caracterización físico-química de residuos agroindustriales (cáscara de café), como materia prima potencial para la obtención de bioetanol*. UNAN Editor.
- Bach. Leodan Ramos Mego, B. S. (2020). *Efecto de la deshidratación sobre los fenoles totales en la obtención de harina de pulpa de café*. Jaén: Universidad Nacional de Jaén.
- Bettancourt, A. (2002). *Variedades de café arábica resistentes a la roya y perspectivas para su utilización en la caficultura futura*. San Salvador: IICA.
- Borem, F. F. (2016). *The Relationship Between Organic Acid, Sucrose and The Quality of Specialty Coffees* (Vol. 11). Afr J Agric Res.
- Boza, A. L.-S. (2000). *Preformulación de crema y ungüento a partir de un extracto seco de la corteza de Mangifera indica L* (Vol. 11). Información Tecnológica.
- C.Clamenti, W. N. (2007). A spectrometric and chromatographic approach to the study of ageing of madder (*Rubia tinctorum* L.) dyestuff on wool. Anal Chim Acta 596.
- Capanoglu, E. B. (2018). The effect of green bean maturity and heat processing on metabolite profile of coffee. Journal of Agricultural and Food Chemistry.
- Cheraghi E, S. S. (2021). The effect of quercetin on the quality of sperm parameters in frozen-thawed semen of patients with asthenospermia. Andrologia.

- Cofenac. (2012). *Sector cafetalero ecuatoriano 2012*. Obtenido de <http://www.cofenac.org/wp-content/uploads/2010/09/situacion-sector-cafe-ecu-2013.pdf>
- Davis, J. M. (2019). *Coffee: botany, biochemistry and production of beans and beverage*. . Springer.
- Echeverría, M. P. (2017). *The Solid Wastes of Coffee Production and of Olive Oil Extraction: Management Perspectives in Rural Areas*. Obtenido de In Tech.: doi:10.5772/intechopen.69427
- Elsawy, M. F.-D. (9 de 7 de 2021). *Utilization of Coffee Husks to Prepare Functional Products*. Obtenido de Journal of Food Sciences; Suez Canal University, 2021: https://scuj.journals.ekb.eg/article_200308_b03edd8203e1b5776445e3c7c03c9618.pdf
- Fajardo, P. &. (2013). *Evaluación de la calidad física del café en los procesos de beneficio húmedo tradicional y ecológico*. CENICAFE.
- FAO, C. S. (2012). *Análisis de la Cadena de Valor del Café con Enfoque de Seguridad Alimentaria y Nutricional*. Managua, Nicaragua: FAO.
- Farah, A. M. (2008). Chlorogenic acids from green coffee extract are highly bioavailable in humans. . J Nutr.
- Ferguson, L. (2001). Role of plant polyphenols in genomic stability. *Mutat.: Res.*, 475 (1-2):.
- Ferguson, L. (2001). Role of plant polyphenols in genomic stability. *Mutat. Res.*
- Gao, X. e. (2019). Recent advances in extraction and determination methods of flavonoids from natural sources. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*.
- Garcia, M. P. (2019). *Evaluating Coffee Cascara Flavors: An Exploration of Sensory Analysis* (Tesis doctoral). Universidad del Café.

- Gauthier, B.-V. G.-G.-F.-P. (2016). Fungal biotransformation of chlorogenic and caffeic acids by *Fusarium graminearum*- new insights in the contribution of phenolic acids to resistance to deoxynivalenol accumulation in cereals. *Int. J. Food Microbiol.*
- Gauthier, L. M.-V.-G. (2016). Fungal biotransformation of chlorogenic and caffeic acids by *Fusarium graminearum*- new insights in the contribution of phenolic acids to resistance to deoxynivalenol accumulation in cereals. *Int. J. Food Microbiol.*
- Gómez-Fontela, M. L. (2020). Cascara valorization: An overview on coffee silverskin applications and extraction of bioactive compounds. *Processes.*
- Higdon, J. V. (2008). Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions. *. Critical reviews in food science and nutrition.*
- Lenka Blinová, M. S. (2017). *Utilization of waste from coffee production.*
<https://sciencedirect.com/pdf/10.1515/rput-2017-0011#:~:text=Coffee%20husks%20are%20composed%20of,2%2C%2013%2C%2014:Slovak%20University%20of%20Technology%20in%20Bratislava> .
- Liu, M. e. (2018). Recent progress in the analytical methods for flavonoids from *Scutellaria baicalensis*. *Chinese Medicine.*
- MAG. (23 de Abril de 2018). *MAG.* Obtenido de Ministerio de Agricultura y Ganadería:
<https://www.agricultura.gob.ec/magap-ejecuta-proyecto-de-reactivacion-de-la-caficultura-ecuatoriana/&num=1&hl=es&gl=ec&strip=0&vwsrc=0>
- Manosalvas, L. A. (2017). *Secado de café arábico de la variedad caturra mediante lecho fluidizado.* Ibarra - Ecuador: Universidad técnica del norte.
- Marín, S. A. (2013). *Cambios físicos y químicos durante la maduración del fruto de café (Coffea arábica L. var. Colombia).* CENICAFÉ.

Masson, L. (2009). *Métodos analíticos para la determinación de humedad, alcohol, energía, materia grasa y colesterol en alimentos*. FAO. Obtenido de <https://www.fao.org/3/ah833s/Ah833s16.htm>

Middleton, E. &. (1994). The impact of plant flavonoids on mammalian biology: implications for immunity, inflammation and cancer. Springer: In *The flavonoids: Advances in research since 1986*.

Monge, D. J. (2015). *Programa de Maestría en Relaciones Internacionales Mención en Negociaciones Internacionales y Manejo de Conflictos*. Simón Bolívar: <https://core.ac.uk/download/pdf/159776021.pdf>.

Neveu, V. P.-J. (Enero de 2010). *Phenol-Explorer: an online comprehensive database on polyphenol contents in foods*. Obtenido de <https://academic.oup.com/database/article/doi/10.1093/database/bap024/401207>

NTE INEN 2 441:2015. (2015). *NTE INEN 2 411:2015*. Obtenido de NTE INEN 2 411:2015: <https://ia801900.us.archive.org/18/items/ec.nte.2411.2008/ec.nte.2411.2008.pdf>

Ocampo, R. L. (2008). *Curso práctico de química orgánica. Enfocado a biología y alimentos. Manizales, Caldas, Colombia*. Universidad de Caldas.

Padilla, G. Y. (2018). *Determinación de la Capacidad Antioxidante y Polifenoles Totales de la Cascara y Mucílago de la Especie Coffea Arábica L y sus Posibles Usos, San Ignacio, Cajamarca – 2018*. Huacho – Perú: <https://repositorio.unjfsc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14067/2763/ADRIANZEN%20PADILLA%20GREYCE.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

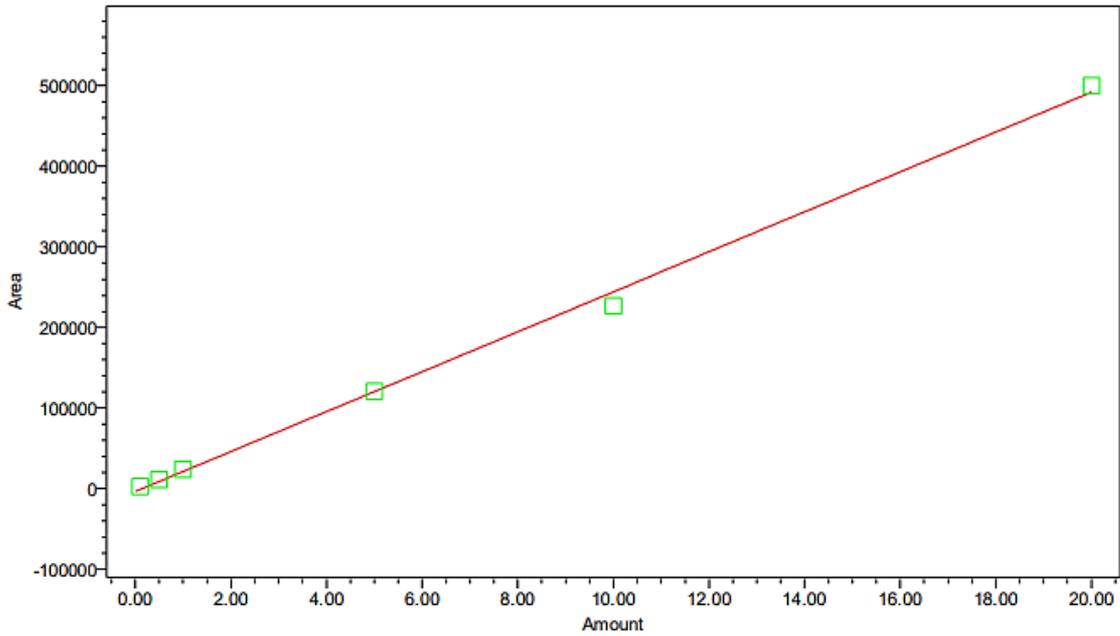
- Pereira, G., Arruda, H., Molina, G., & Pastore, G. (2017). *Extraction optimization and profile analysis of oligosaccharides in banana pulp and peel* (Vol. 42). J. Food Proc. Preserv. Obtenido de <https://doi.org/10.1111/jfpp.13408>
- Porras, M. F. (2021). *Elaboración de una bebida funcional a partir del aprovechamiento de la cáscara deshidratada del café como alternativa de valorización de subproductos*. Bogotá, Colombia: Universidad de los Andes.
- Preedy, V. (2015). *Coffee in Health and Disease Prevention*. Londres: Elsevier Inc. doi:<https://doi.org/10.1016/C2012-0-06959-1>
- Puerta, G. (1 de Junio de 2000). *Cenicafé*. Obtenido de Influencia de los granos de café cosechados verdes en la calidad: <http://biblioteca.cenicafe.org/handle/10778/65>
- Puerta, G. I. (Diciembre de 2011). Composición química de una taza de café. *Cenicafé*, 12. Obtenido de <https://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/340/1/avt0414.pdf>
- Pulgarín, J. (2014). *Crecimiento y desarrollo de la planta de café*. Bogotá: Cenicafé.
- Rafecas, M. (2010). Antioxidantes para una mejor calidad de vida. ACOFAR.
- Rebollo-Hernanz, M. Z.-C. (2019). Cocoa Shell: A Byproduct with Great Potential for Wide Application. . *Crit Rev Food Sci Nutr.* .
- Rocío, P. V. (2021). *Aprovechamiento del residuo de procesamiento del café (pulpa de café y pulpa de tamarindo) para la fabricación de una bebida energética natural*. Quito: Universidad Central del Ecuador Facultad de Ingeniería Química.
- Safdar MN, K. T. (2017). *Extraction and quantification of polyphenols from kinnow (Citrus reticulata L.) peel using ultrasound and maceration techniques* (Vol. 25). J Food Drug Anal. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.07.010>

- Salazar, M. A. (2006). Crecimiento y desarrollo del fruto de café y su relación con la broca. CENICAFE.
- Samoggia, A. &. (2019). Coffee by-products and their possible use in the food industry: A review. . Food Research International.
- Sánchez Reyes, C. (2009). *Cultivo, producción y comercialización del café*. Lima: RIPALME.
- Saura, J. (20 de Junio de 2014). *Efectos de polifenoles sobre un modelo experimental de osteoporosis*. Obtenido de Universidad de Murcia:
<http://www.tdx.cat/handle/10803/284790>
- Seremet, L. B. (2016). *Effect of different drying methods on moisture ratio and rehydration of pumpkin slices* (Vol. 195). Food Chemistry.
- Shoemaker, J. A. (2018). *Determination Of Selected Per- And Polyfluorinated Alkyl Substances In Drinking Water By Solid Phase Extraction And Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry (Lc/Ms/Ms)*. OHIO: National Exposure Research Laboratory.
- Silva, M., Honfoga, J., Medeiros, L., Madruga, M., & Bezerra, T. (2021). Obtaining Bioactive Compounds from the Coffee Husk (*Coffea arabica* L.) Using Different Extraction Methods. *Molecules*, 9. Obtenido de <https://doi.org/10.3390/molecules26010046>
- Smith, J. A. (2020). Flavor and Aroma Profiles of Coffee Cherry Husk Preparations: Sensory Analysis. *Journal of Coffee Science*.
- Suárez Albarracín, L. (2018). Aprovechamiento agroindustrial de la pulpa y cascarilla del café (coffea arábica) variedad caturra en el noroccidente de Pichincha. Quito: Universidad de las Américas, 2018.

- Teresa M. Pacheco, S. T. (2018). *Quantification of bioactive compounds in Coffea arabica shell in Bolivia* (Vol. 35). (R. B. Química, Ed.) Obtenido de <https://www.redalyc.org/journal/4263/426358213001/html/>
- Thouri, A. C. (2017). *Effect of solvents extraction on phytochemical components and biological activities of Tunisian date seeds (var. Korkobbi and Arechti)*. (Vol. 17). BMC Complement Altern Med. Obtenido de <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1751-y>
- Valencia J., P. M. (2015). *Caracterización fisicoquímica y sensorial de tazas de café producidas en el departamento del Quindío* (Vol. 23). Revista Alimentos hoy.
- Velásquez-Santos, C. y.-Á. (2014). *Procedimiento para deshidratación de orégano utilizando gas propano como combustible* (Vol. 17(33)). Tecno Lógicas.
- Virgüez Garzón, N. &. (2019). Obtenido de Evaluación del mucílago del café (*Coffea arabica* L. Caturra) como potencial prebiótico en una bebida de arroz. : https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_alimentos/277
- Wang, N. &. (2012). *Fourier transform infrared and physicochemical analyses of roasted coffee* (Vol. 60). Journal of agricultural and food chemistry.
- Zavala, J. X. (2021). *Elaboración de una Bebida Fermentada con tres Variedades de té de Pulpa de Café (typica, sarchymor y bourbón sydra), Utilizando Niveles del 1, 1.5 Y 2%*. Riobamba – Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Facultad de Ciencias Pecuarias Ingeniería en Industrias Pecuarias.
- Zheng, G. K. (2004). Anti-obesity effects of three major components of green tea, catechins, caffeine and theanine, in mice. In Vivo.

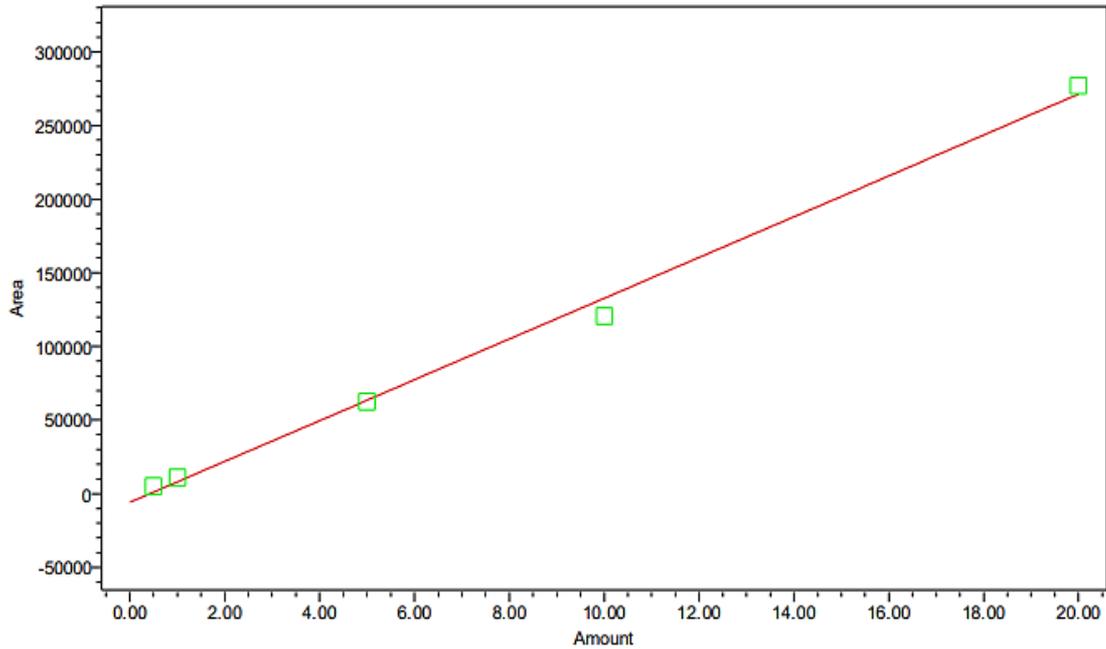
Apéndice A

Calibration Plot



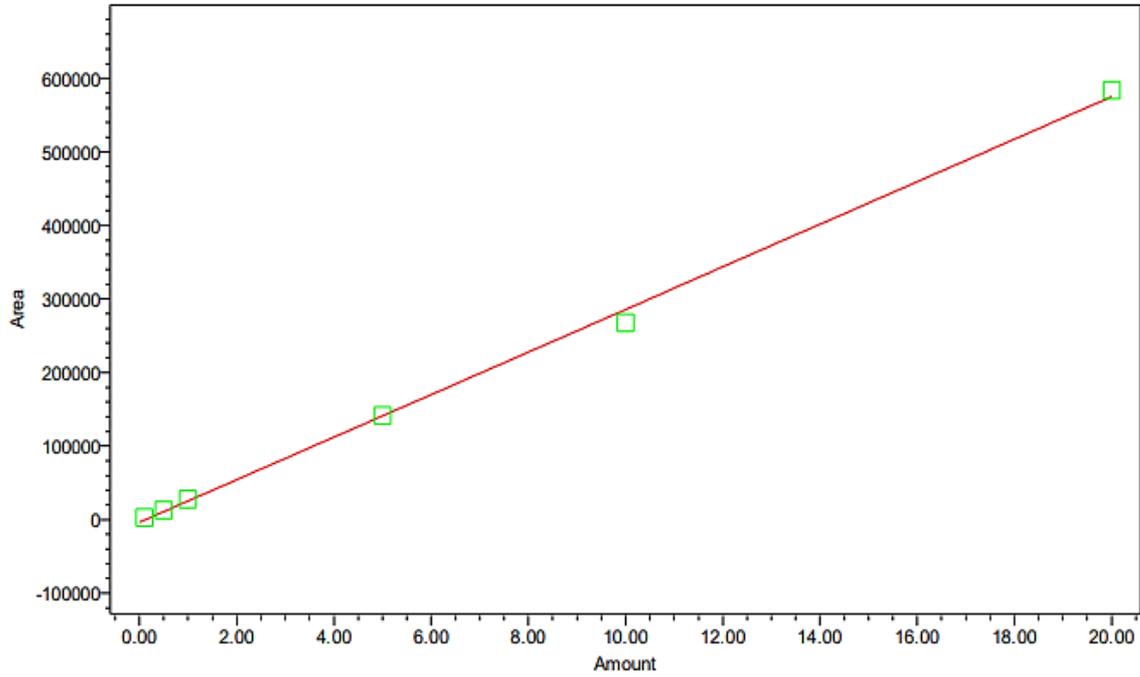
Name: Ác. gálico; Processing Method: Polifenoles 280 nm; Fit Type: Linear (1st Order); Cal Curve
Id: 1648; A: -3.376344e+03; B: 2.477885e+04; C: 0.000000e+00; D: 0.000000e+00; R²:
0.997904

Calibration Plot



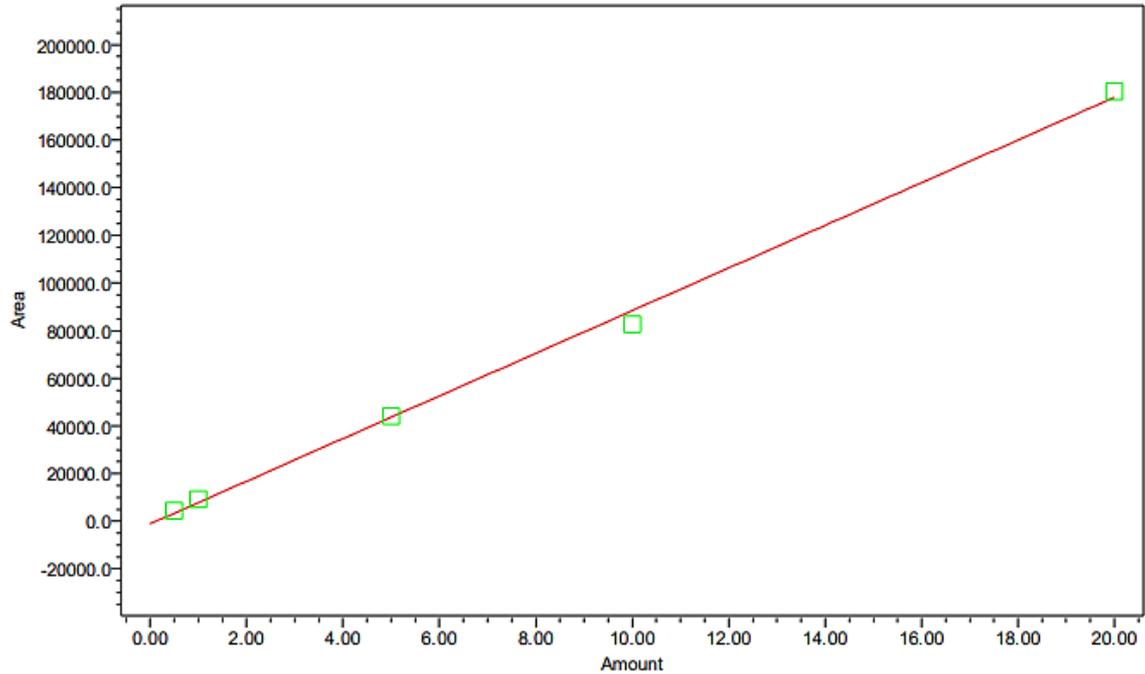
Name: Quercetina; Processing Method: Polifenoles 320 nm; Fit Type: Linear (1st Order); Cal Curve
Id: 1756; A: -5.757437e+03; B: 1.384360e+04; C: 0.000000e+00; D: 0.000000e+00; R²:
0.995928

Calibration Plot



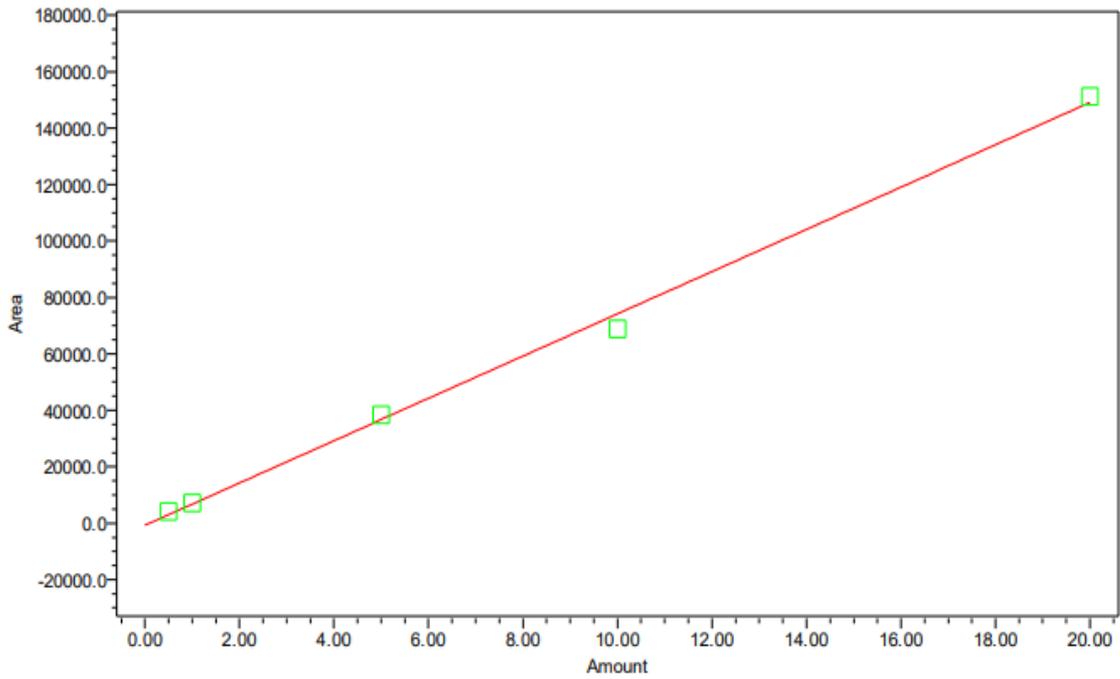
Name: Ác Clorogénico; Processing Method: Polifenoles 320 nm; Fit Type: Linear (1st Order); Cal Curve Id: 1752; A: -3.652075e+03; B: 2.893901e+04; C: 0.000000e+00; D: 0.000000e+00; R²: 0.998341

Calibration Plot



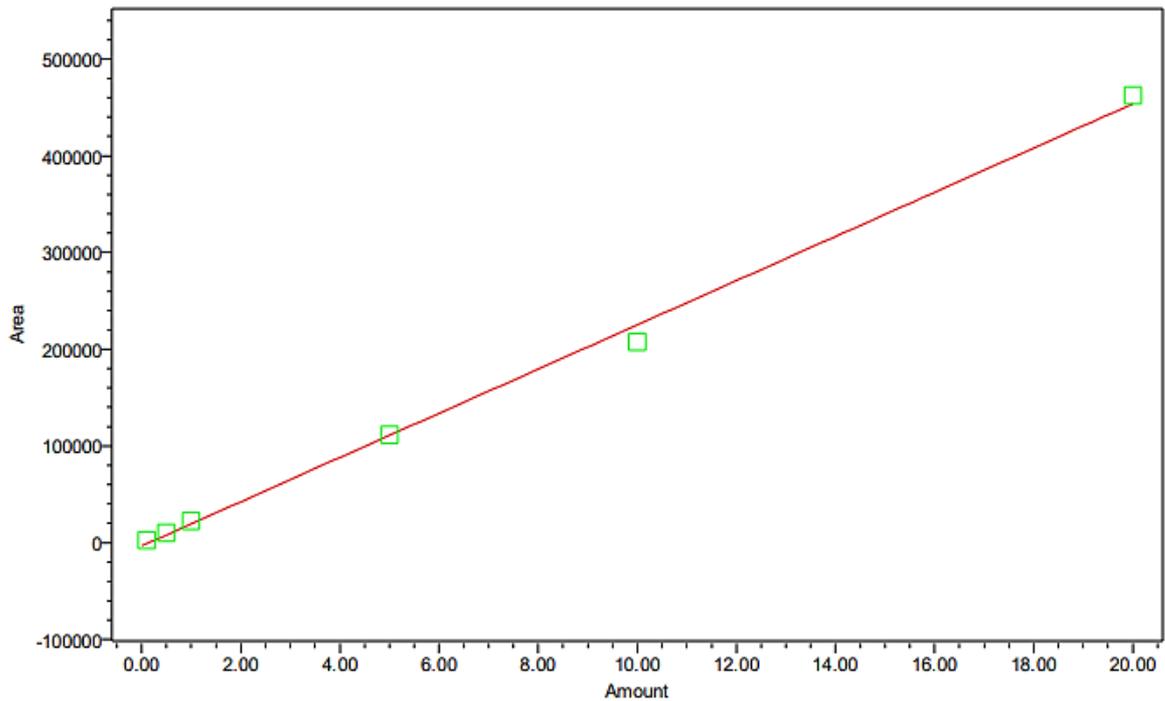
Name: Rutina; Processing Method: Polifenoles 320 nm; Fit Type: Linear (1st Order); Cal Curve Id: 1755; A: -1.153799e+03; B: 8.953067e+03; C: 0.000000e+00; D: 0.000000e+00; R²: 0.998001

Calibration Plot



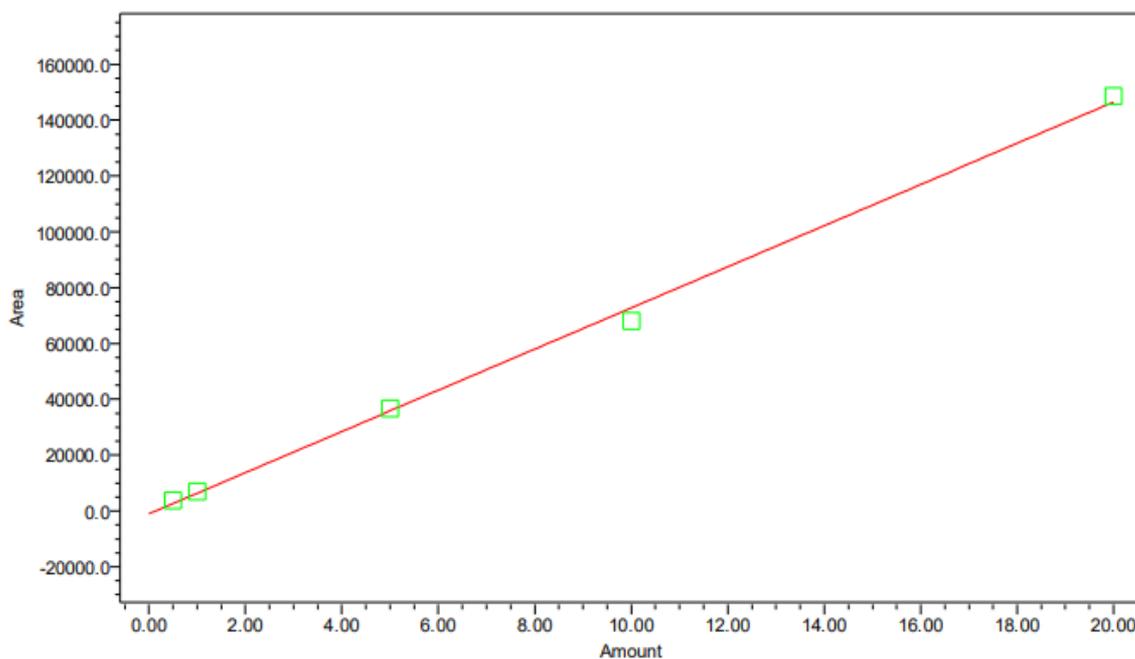
Name: Epicatequina; Processing Method: Polifenoles 280 nm; Fit Type: Linear (1st Order); Cal Curve Id: 1653; A: -7.163218e+02; B: 7.487659e+03; C: 0.000000e+00; D: 0.000000e+00; R²: 0.997340

Calibration Plot



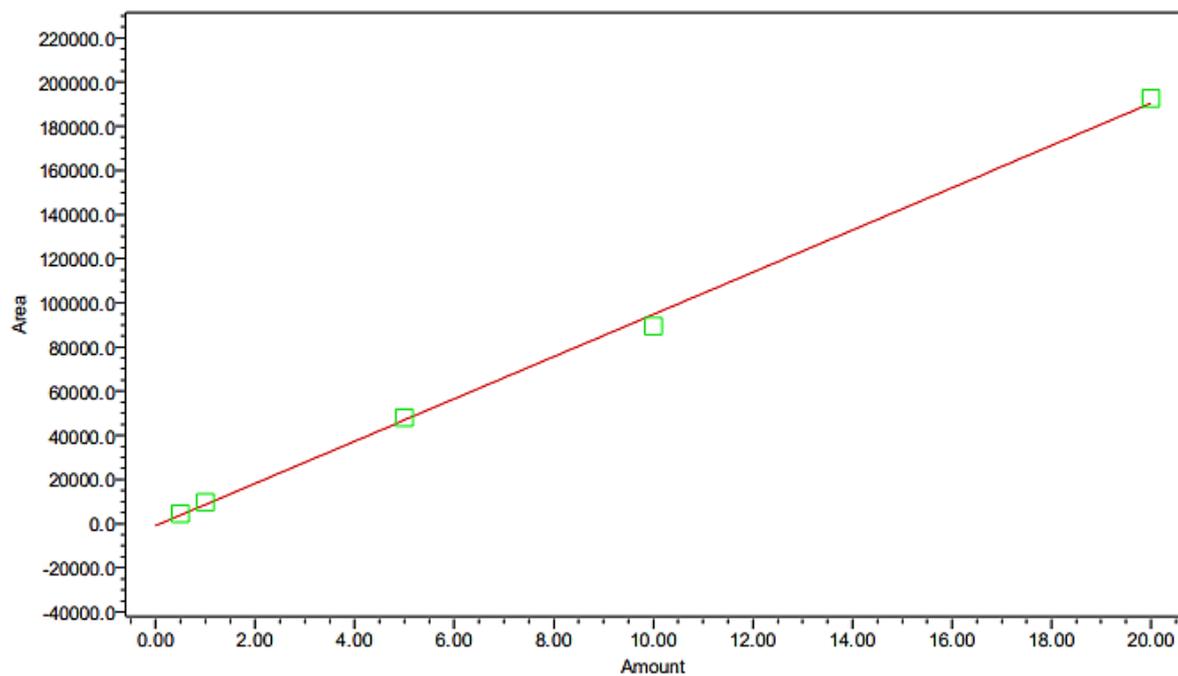
Name: Cafeína; Processing Method: Polifenoles 280 nm; Fit Type: Linear (1st Order); Cal Curve Id: 1651; A: -3.410702e+03; B: 2.285629e+04; C: 0.000000e+00; D: 0.000000e+00; R²: 0.997424

Calibration Plot



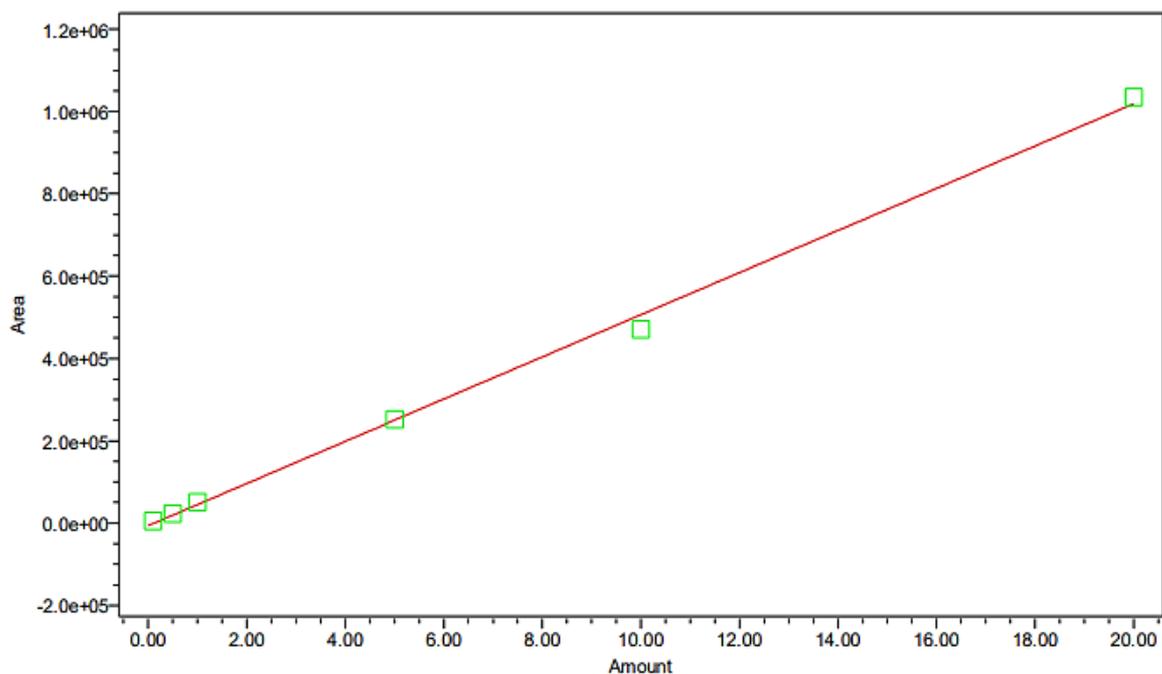
Name: Catequina; Processing Method: Polifenoles 280 nm; Fit Type: Linear (1st Order); Cal Curve Id: 1649; A: -1.016472e+03; B: 7.372330e+03; C: 0.000000e+00; D: 0.000000e+00; R²: 0.997943

Calibration Plot



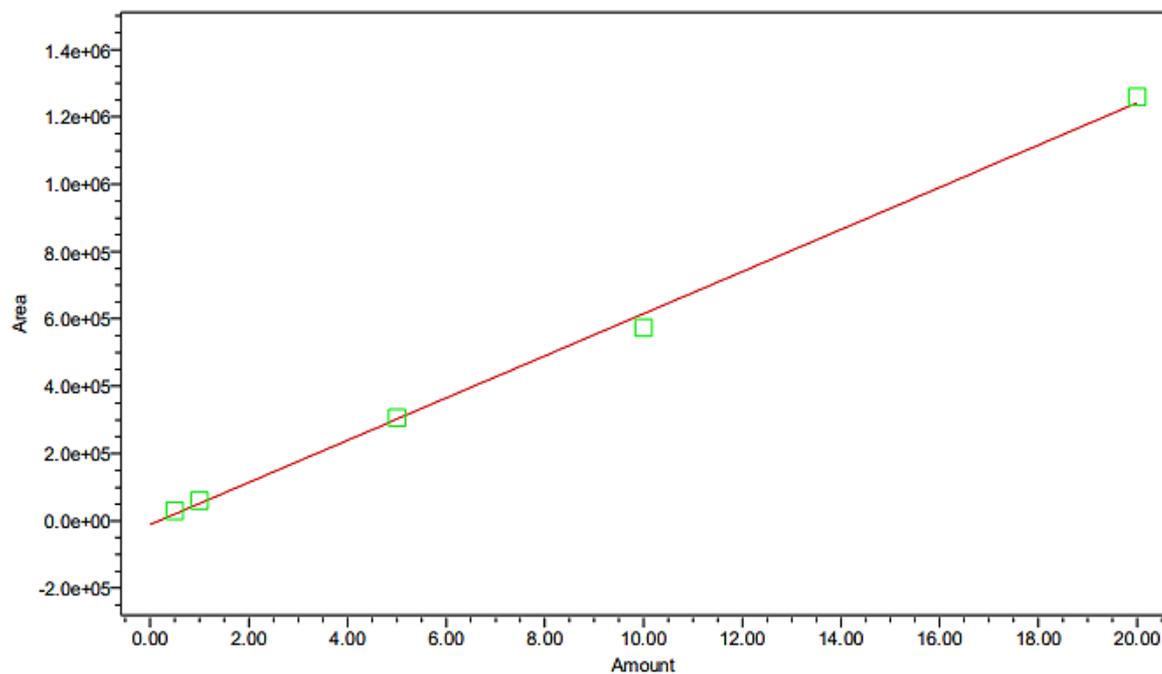
Name: Naringenina; Processing Method: Polifenoles 320 nm; Fit Type: Linear (1st Order); Cal Curve Id: 1757; A: -9.402628e+02; B: 9.563214e+03; C: 0.000000e+00; D: 0.000000e+00; R²: 0.998411

Calibration Plot



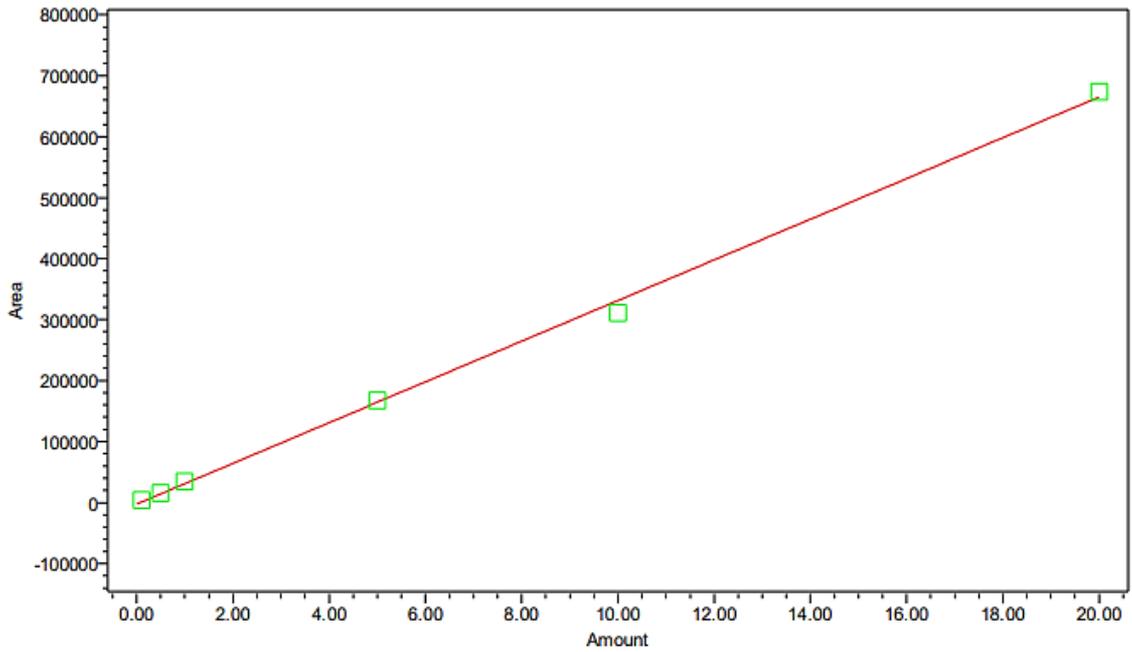
Name: Ác. cafeico; Processing Method: Polifenoles 320 nm; Fit Type: Linear (1st Order); Cal Curve Id: 1753; A: -6.168777e+03; B: 5.122728e+04; C: 0.000000e+00; D: 0.000000e+00; R²: 0.998026

Calibration Plot



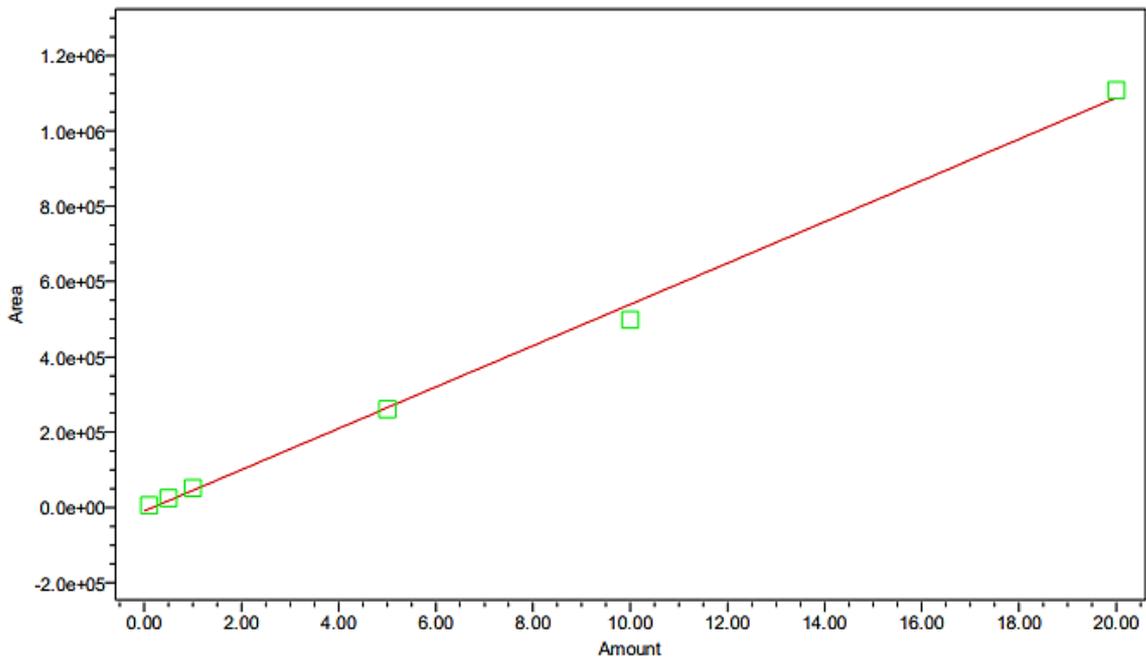
Name: p-Cumárico; Processing Method: Polifenoles 320 nm; Fit Type: Linear (1st Order); Cal Curve Id: 1754; A: -1.082403e+04; B: 6.259273e+04; C: 0.000000e+00; D: 0.000000e+00; R²: 0.997857

Calibration Plot



Name: Ác. Syringico; Processing Method: Polifenoles 280 nm; Fit Type: Linear (1st Order); Cal Curve Id: 1654; A: -2.431162e+03; B: 3.335940e+04; C: 0.000000e+00; D: 0.000000e+00; R²: 0.998479

Calibration Plot



Name: Apigenina; Processing Method: Polifenoles 320 nm; Fit Type: Linear (1st Order); Cal Curve Id: 1759; A: -9.371987e+03; B: 5.484841e+04; C: 0.000000e+00; D: 0.000000e+00; R²: 0.997533

