

## Borra de café colombiano (*Coffea arabica*) como fuente potencial de sustancias con capacidad antirradicales libres *in vitro*

### Colombian spent coffee grounds (*Coffea arabica*) as a potential source of substances with free radicals capacity *in vitro*

Dr. Miguel A. Puertas-Mejía,<sup>I</sup> Quím. Paola Villegas-Guzmán,<sup>I</sup> Dr. C. Benjamín Alberto Rojano<sup>II</sup>

<sup>I</sup> Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

<sup>II</sup> Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Medellín, Colombia.

---

#### RESUMEN

**Introducción:** *Coffea arabica* L., además de su importancia comercial, también se considera una planta medicinal, porque presenta propiedades biológicas diversas, pero por su comercialización como bebida genera muchos subproductos. La borra es uno de estos, que se obtiene por la preparación de la bebida, contiene una concentración significativa de compuestos polifenólicos y, por tanto, la recuperación de estas sustancias a partir de un residuo sin valor, sería potencialmente útil para la industria farmacéutica y alimentaria.

**Objetivos:** recuperar compuestos fenólicos a partir de la borra de café y darle un valor agregado a un residuo de origen vegetal, como fuente de componentes con capacidad antirradicales libres *in vitro*.

**Métodos:** la borra de café previamente secada se sometió a extracciones sólido-líquido usando diferentes sistemas de solventes. Se evaluaron las propiedades antioxidantes *in vitro* usando los métodos del catión radical del ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazoline-6-sulfónico) y del radical 1,1-difenil-2-picrilhidracilo. Se usó cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas para la caracterización de los principales componentes.

**Resultados:** todos los extractos obtenidos mostraron buena capacidad antioxidante, con el extracto de etanol:agua como el mejor, seguido del extracto de metanol acidulado. Sin embargo, la capacidad antioxidante de la fracción en diclorometano del extracto etanol:agua resultó menor que la presentada por la taza de café. Se identificaron los ácidos clorogénico, isoclorogénico y feruloilquínico como los principales componentes de la borra de café.

**Conclusiones:** todos los extractos presentaron buena capacidad protectora contra radicales libres. La borra de café, considerada un desecho obtenido del procesamiento industrial, se puede convertir en materia prima para la recuperación de sustancias antioxidantes; lo cual genera grandes expectativas sobre su posible uso en la industria farmacéutica y alimentaria, y le da al café un valor agregado importante.

**Palabras clave:** borra de café, capacidad antioxidante, polifenoles, residuos sólidos alimenticios, *Coffea arabica*.

---

## ABSTRACT

**Introduction:** besides its commercial importance, *Coffea arabica* L. is also considered a medicinal plant due to its various biological properties, but its marketing produces a large amount of residues. Spent coffee grounds are one of these residues, which are obtained after the preparation of the drink and contain a significant concentration of polyphenolic compounds. Therefore, the recovery of these substances costless residual will be potentially useful for food and pharmaceutical industry.

**Objectives:** to recover polyphenolic compounds from spent coffee grounds and to give an added value to a vegetable waste as a source of substances with free radicals capacity *in vitro*.

**Methods:** dehydrated spent coffee grounds were subjected to solid-liquid extraction using different solvent systems. Antioxidant properties were evaluated *in vitro* using the radical monocation 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) and the stable free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Liquid chromatography coupled to mass spectrometry was applied to characterize the main compounds.

**Results:** all the extracts obtained showed a good antioxidant capacity with ethanol-water extract, followed by acidulated methanol extract. However, the antioxidant capacity of the ethanol-water extract was lower than coffee beverage. Chlorogenic, isochlorogenic and feruloylquinic acids were identified as the main compounds present in spent coffee grounds.

**Conclusions:** all extracts showed a significant protection effect against free radicals; spent coffee ground, which is considered an undesirable solid waste from industrial processing, could be an add-value raw material in the recovery of antioxidant substances which generates great expectations about its possible use in the pharmaceutical and food industry and gives coffee an important added value.

**Key words:** spent coffee ground, antioxidant capacity, polyphenols, solid food residues, *Coffea arabica*.

---

## INTRODUCCIÓN

El café (*Coffea arabica* L.), tanto el grano en sus diferentes grados de madurez como la planta misma, es un producto natural que podría enmarcarse dentro de las plantas medicinales, porque presenta muchas propiedades beneficiosas bien sea para tratar diferentes enfermedades o en actividades biológicas como son antibacteriales,<sup>1,2</sup> afrodisíacas,<sup>3</sup> contra la influenza,<sup>4</sup> hepatitis,<sup>5</sup> y antioxidantes,<sup>6</sup> entre otras. Desde el punto de vista económico, el café ha sido por muchos años uno de los principales

---

productos de la agroindustria colombiana, que provee aproximadamente 553 000 empleos directos, equivalente a 29 % del empleo rural y un área cultivada alrededor de 914 000 hectáreas.<sup>7</sup> No obstante, a pesar de su importancia reconocida, el impacto ambiental ocasionado por los residuos de la industria cafetalera se ha incrementado drásticamente, debido al rápido desarrollo industrial que ha tenido Colombia en los últimos años. De hecho, los desechos del fruto que representan alrededor de 80 % del total del peso del grano, son una fuente importante de contaminación y desde hace algún tiempo estos residuos se han aprovechado como materia prima para la producción de piensos, bebidas, vinagre, biogas, cafeína, pectina, entre otros.<sup>8-10</sup> Adicionalmente, de los residuos industriales del café pueden obtenerse, en distintos estados de pureza, pectinas sin refinar, azúcares naturales del fruto del café, compuestos antioxidantes (flavonoides y proantocianinas incoloras). Estos últimos tienen un uso potencial como aditivos en formulaciones farmacológicas, con un elevado provecho para la industria "nutracéutica"; lo cual estaría en consonancia con el interés creciente de los consumidores por el papel favorecedor de la salud que desempeñan algunos productos específicos y la actividad fisiológica de ciertos compuestos alimentarios; no obstante, la mayoría de estos residuos se utilizan como alimento para animales.<sup>11-13</sup>

La borra de café es un subproducto derivado de la comercialización del grano tostado que se obtiene durante la preparación de la bebida, y en esta se puede llegar a obtener una concentración significativa de compuestos polifenólicos,<sup>14</sup> como son los ácidos clorogénico y feruloilquínico, entre otros.<sup>15,16</sup> Debido al alto contenido de sustancias bioactivas reportado en el grano de café, se ha dado un interés especial en la borra, con el fin de obtener extractos ricos en estos compuestos y que puedan ser usados como material de partida o para el desarrollo de nuevos productos, con un alto contenido de fitoquímicos de elevada capacidad biológica. Sobre la base de lo anterior, el objetivo de este trabajo estuvo en darle un valor agregado a este subproducto (borra de café), como fuente importante de sustancias con propiedades antioxidantes, convirtiendo un residuo de origen vegetal en un material de aprovechamiento para la industria farmacéutica y alimentaria.

## MÉTODOS

*Material de estudio:* la borra de café y la bebida de café empleadas se suministraron por las cafeterías Burbuja de la Universidad de Antioquia (referencia Café Tostado en Pepa). La borra se secó durante 48 h a temperatura ambiente y se aisló de la luz solar. Luego, 50 g del material seco se sometieron a extracción convencional sólido-líquido con agitación magnética durante 3 h, usando 400 mL de los solventes siguientes: A. MeOH 1 % v/v en HCl (porcentaje de rendimiento 56,14 %); B. etanol: agua 1:1 (porcentaje de rendimiento 35,87 %); y C. HCl 1 % v/v (porcentaje de rendimiento 22,38 %). Posteriormente, los extractos se concentraron de acuerdo con el solvente empleado; así, la muestra en metanol acidulado se sometió a rotavaporación y la muestra en agua acidulada se liofilizó. La muestra en etanol: agua, al igual que la taza de café, se sometieron a extracción líquido-líquido con diclorometano y las fracciones orgánicas se reconcentraron por rotavaporación. Cada proceso de extracción se realizó por duplicado.

## Evaluación de la capacidad antioxidante

*Contenido de fenoles totales (CFT):* se determinaron mediante modificaciones del método de *Folin-Ciocalteu*.<sup>15</sup> Brevemente, una alícuota de 50 µL de una dilución apropiada de las muestras en diclorometano (etanol: agua y la taza de café) se

mezclaron con 125  $\mu\text{L}$  de reactivo *Folin-Ciocalteu*, 425  $\mu\text{L}$  de agua y 400  $\mu\text{L}$  de solución saturada de carbonato de sodio. Después de 1 h de reacción se leyó la absorbancia a 760 nm y los resultados se expresaron como miligramos de ácido gálico por gramos de extracto.

*Ensayo de ABTS*: se basó en el método descrito en *Puertas* y otros,<sup>16</sup> con modificaciones menores. Brevemente, 10  $\mu\text{L}$  de una dilución apropiada de los extractos y 1 990  $\mu\text{L}$  de la solución del radical  $\text{ABTS}^{+\cdot}$  se mezclaron y se dejaron reaccionar por 6 min e inmediatamente la absorbancia se midió a 734 nm. Para correlacionar los resultados de absorbancia se hizo una curva de calibración con soluciones Trolox (concentraciones entre 0,2 y 2 mM). Los resultados se expresaron en términos de TEAC (actividad antioxidante equivalente a Trolox). Como sustancias de referencia se emplearon ácido ascórbico y t-butilhidroxianisol (BHA).

*Ensayo DPPH*: se hicieron modificaciones del método empleado por *Puertas-Mejía* y otros.<sup>17</sup> Alícuotas adecuadas de los extractos se mezclaron con 1 500  $\mu\text{L}$  de la solución de trabajo de DPPH (30,7 ppm) y la absorbancia se midió a 514 nm. Para hallar la concentración efectiva se empleó la ecuación siguiente:

$$\text{EC}_{50} = \text{concentración de la muestra en el estado estacionario} / \text{concentración de DPPH } t = 0;$$

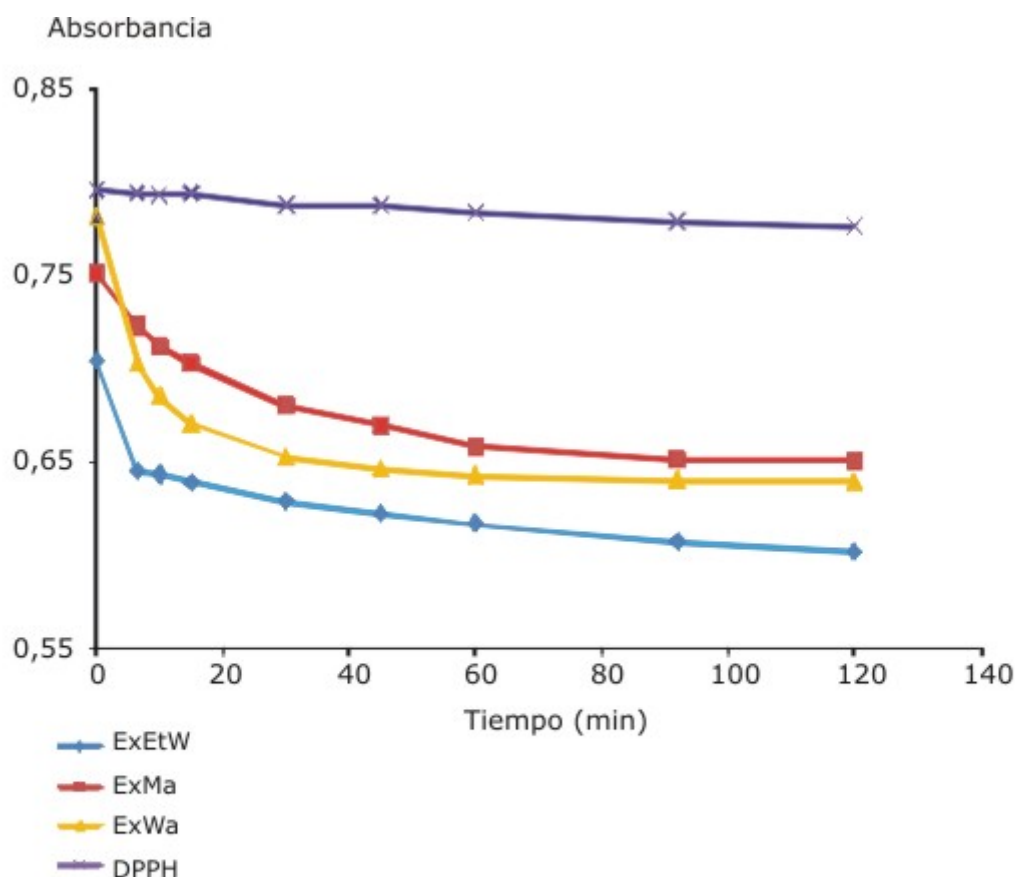
y para determinar la capacidad antioxidante en términos de porcentaje de inhibición se utilizó la ecuación siguiente:

$$\% \text{ Inhibición} = 100 \times (\text{Absorbancia inicial} - \text{Absorbancia final}) / \text{Absorbancia inicial}$$

*Método HPLC-DAD-MS*: se usó un equipo HPLC-Agilent serie 1100 equipado con una bomba cuaternaria, válvula de inyección manual (Rheodyne) con un *loop* de 20  $\mu\text{L}$ , desgasificador y compartimiento de termostato. La columna analítica empleada fue octadecilo C18 (4,6  $\times$  150 mm, DI 5  $\mu\text{m}$ ). Se usaron 2 sistemas de solventes. El solvente A: ácido fórmico 0,1 % (v/v) y el solvente B: metanol. El gradiente lineal empleado fue: 80 % A (0 min), 80-60 % A (20 min), (60 % A 5 min), 60-40 % A (5 min). La detección se realizó a 280 nm. Adicionalmente, los extractos se analizaron por infusión directa en un MS Agilent Technologies 6300 Series, con trampa de iones (Ion Trap MS System) y un rango de masas de 200-800 m/z. Todos los análisis se hicieron por duplicado.

## RESULTADOS

Mediante el ensayo de DPPH se determinó el estado estacionario de la reacción, tiempo en el cual se puede decir que la variación de la absorbancia debida a la inhibición del radical DPPH es no significativa (Fig. 1). De estos resultados se estableció el estado estacionario a los 60 min de reacción, en donde la variación de la absorbancia fue menor al 2 %. Adicionalmente, los resultados de capacidad antioxidante mostraron que el extracto TC (taza de café) presentó el mayor efecto protector, con respecto a los demás extractos, como era de esperarse, porque esta es la muestra obtenida de la bebida de café sin tratamiento, la cual es reconocida como un producto rico en antioxidantes. El método de extracción con etanol:agua 1:1 fue el de mejor capacidad antioxidante con respecto a los demás. Por tanto, se hizo una segunda extracción líquido-líquido usando como solvente diclorometano, para reducir su matriz y realizar su posterior caracterización, tomando como referencia la taza de café que fue tratada de igual forma.



ExMa: extracto en metanol acidulado; ExEtW: extracto etanol:agua; ExWa: extracto agua acidulada, DPPH: radical 1,1-difenil-2-picrilhidracilo.

**Fig. 1.** Estados estacionarios determinados para los extractos de la borra de café.

**Tabla.** Capacidad antioxidante de los extractos de la borra del café

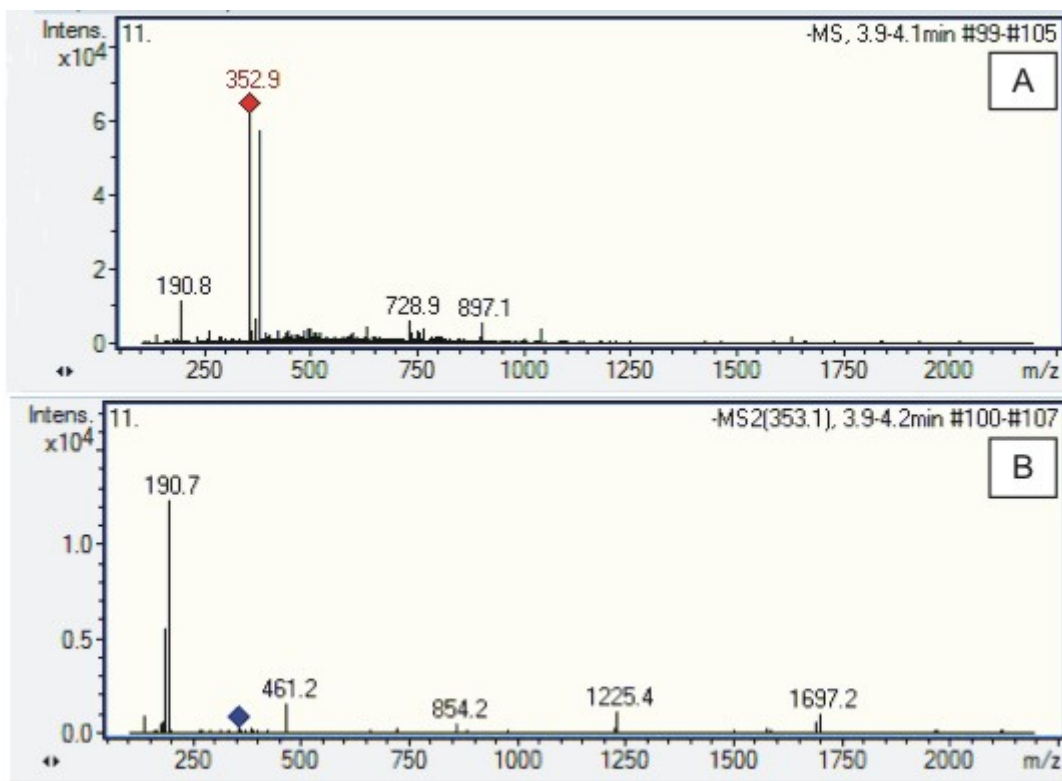
Muestra	% inhibición de DPPH	EC <sub>50</sub> (kg muestra/mmol DPPH)	TEAC (μmol Trolox/g muestra)
ExMa	15,42 ± 0,83	0,1307 ± 0,0064	0,9362 ± 0,0632
ExEtW	25,95 ± 3,02	0,0127 ± 0,0045	1,2196 ± 0,0546
ExEtWo	17,14 ± 1,05	0,0375 ± 0,0017	0,9382 ± 0,0437
ExWa	8,91 ± 0,30	0,2390 ± 0,0064	0,1064 ± 0,0338
TCs	48,74 ± 0,85	0,0109 ± 0,0024	2,2809 ± 0,0823
TCo	98,07 ± 0,72	0,0066 ± 0,0008	3,2623 ± 0,0912
Ácido ascórbico	-	-	1,0619 ± 0,0638
BHA	-	-	1,0046 ± 0,0549

\*ExMa: extracto en metanol acidulado; ExEtW: extracto etanol:agua; ExEtWo: segunda extracción en diclorometano; ExWa: extracto agua acidulada; TCs: taza de café sin tratamiento; TCo: taza de café, extracto en diclorometano, BHA: t-butilhidroxianisol, TEAC: actividad antioxidante equivalente a Trolox.

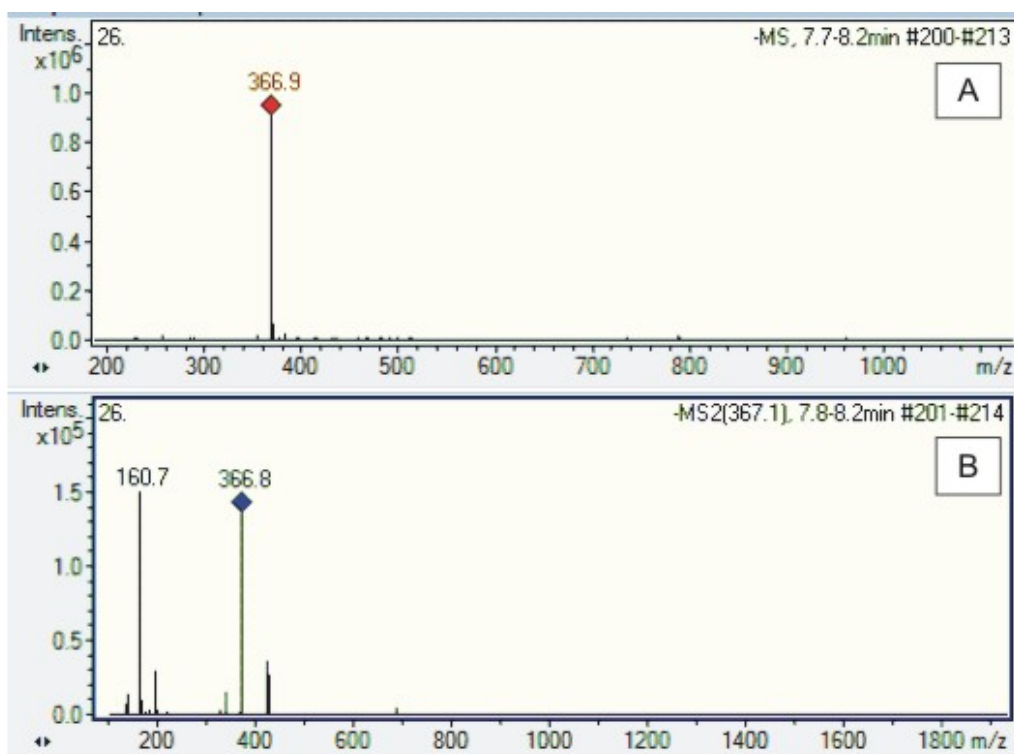
De estos resultados se observó que la muestra identificada como TCs (taza de café sin tratamiento); y su respectiva fase orgánica TCo (taza de café, extracto en diclorometano), presentaron los mejores valores de mayor capacidad antioxidante, respecto a las demás muestras. También se determinó que todas las muestras evaluadas con excepción de la muestra ExWa (extracto en metanol acidulado), presentaron buena capacidad antioxidante comparados con los antioxidantes de referencia, ácido ascórbico y BHA (tabla). Por otro lado, el contenido de fenoles totales determinado tanto en la taza de café como en el extracto etanol:agua fue de  $275,7 \pm 14,8$  y  $119,5 \pm 5,6$  mg de ácido gálico/g de extracto, respectivamente.

Mediante cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (HPLC-MS) se caracterizaron de manera tentativa 3 compuestos mayoritarios presentes en el extracto ExEtWo, a través de la comparación de los espectros de masas, espectros de fragmentación  $MS^2$ , y datos espectroscópicos de la bibliografía (Figs. 2, 3 y 4).

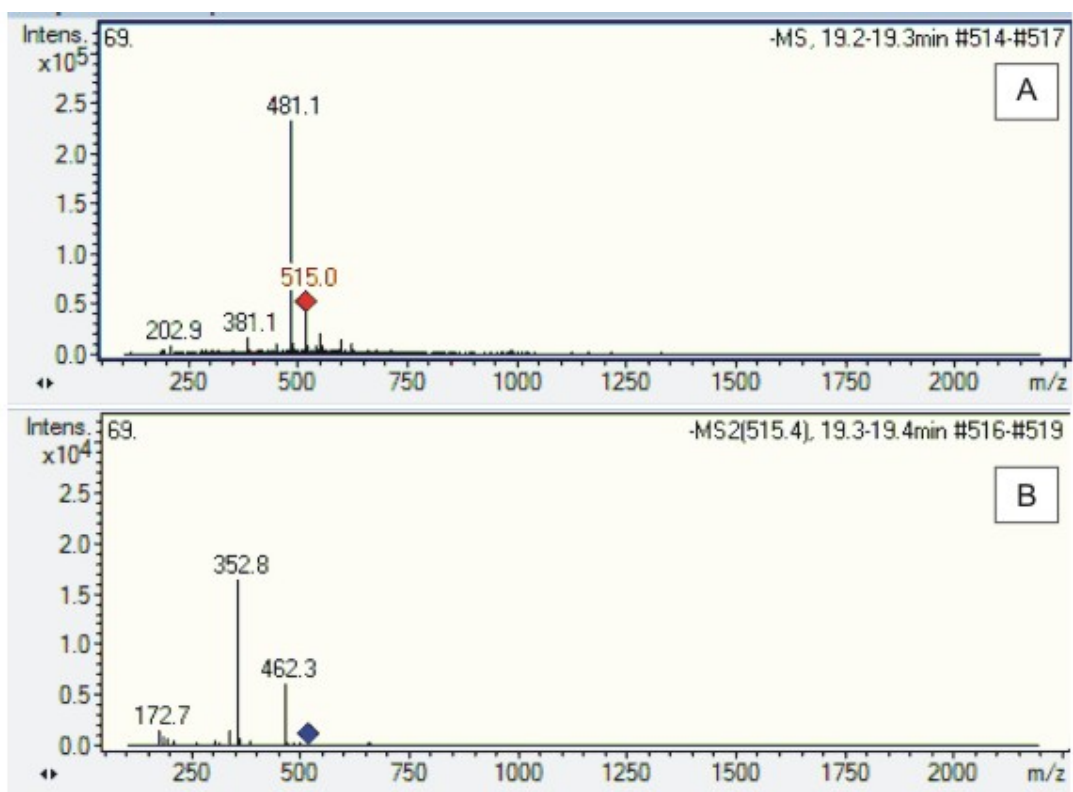
El ácido clorogénico presentó un  $m/z$  352,9 en modo negativo correspondiente al ión molecular deprotonado  $[M-H]^-$ . En el espectro  $MS^2$  se aprecia un fragmento a  $m/z$  190,7 que indica ruptura característica para este compuesto por la pérdida del ácido cafeico por rompimiento del enlace C-O éster.



**Fig. 2.** A: espectro de masas. B: espectro  $MS^2$  (espectrometría de masas tandem-masas/masas) del ácido clorogénico.



**Fig. 3.** A: espectro de masas. B: espectro MS<sup>2</sup> (espectrometría de masas tándem-masas/masas) del ácido feruloilquínico.



**Fig. 4.** A: espectro de masas. B: espectro MS<sup>2</sup> (espectrometría de masas tándem-masas/masas) del ácido isoclorogénico.

El ácido feruloilquínico presentó un m/z en 366,9 en modo negativo correspondiente al ión molecular deprotonado  $[M-H]^-$  y su espectro  $MS^2$  mostró el fragmento a m/z 160,7 que corresponde a la pérdida del ácido quínico por ruptura del enlace C-O éster, de los enlaces C-O metilo y O-H hidroxilo. Y por último, el espectro de masas del ácido isoclorogénico mostró ión molecular deprotonado  $[M-H]^-$  en m/z 515,0 en modo negativo, que fue identificado por el fragmento a m/z 462,3, asignada a la pérdida de 3 moléculas de agua; el fragmento a m/z 352,8 se le atribuyó a la pérdida de una molécula de ácido cafeico y el fragmento a m/z 172,7 se obtuvo por la pérdida de dos moléculas de ácido cafeico.

## DISCUSIÓN

Los métodos de extracción empleados para el estudio de la borra de café mostraron un alto rendimiento de extracción (56,14 a 22,38 %). Con la extracción en metanol acidulado se disminuyó aproximadamente 56 % la cantidad de material de partida, considerado desecho de la industria cafetalera, mientras que con el sistema etanol:agua esta disminución alcanzó 35 % y con agua acidulada 20 %. Todos los extractos obtenidos mostraron buena capacidad antioxidante, siendo el extracto de etanol:agua el de mejor capacidad, seguido del extracto de metanol acidulado. Sin embargo, la capacidad antioxidante de la fracción en diclorometano del extracto ExEtWo fue menor que la presentada por la taza de café TCo. La taza de café presentó mejor capacidad antioxidante en comparación con los extractos estudiados, lo cual era de esperarse considerando que esta muestra fue obtenida directamente de la preparación de la bebida de café tostado con agua caliente, extrayendo gran cantidad de compuestos solubles en agua con características antioxidantes.

Los resultados de este trabajo son comparables con los reportados por *Mussatto* y otros,<sup>18</sup> quienes desarrollaron una investigación sobre la borra obtenida del café consumido en Portugal; aunque los autores determinaron al ácido clorogénico entre los componentes principales, el contenido de fenoles totales fue menor comparado con el obtenido en esta investigación (16 vs.  $119,5 \pm 5,6$  mg de ácido gálico/g de extracto). Por otro lado, los resultados de estos autores se basaron en extracciones realizadas en metanol, un solvente orgánico considerado altamente tóxico; en contraste, nuestro trabajo se fundamentó en lograr un extracto ambientalmente amigable (extracto en etanol-agua), con mejores resultados comparados con el extracto en metanol (tabla).

Finalmente, la borra de café, considerada un desecho obtenido del procesamiento industrial de una planta, se puede convertir en materia prima para la recuperación de sustancias antioxidantes, generando grandes expectativas sobre su posible uso en la industria farmacéutica y alimentaria y dándole a este un valor agregado importante.

## AGRADECIMIENTOS

Al Grupo Interdisciplinario de Estudios Moleculares (GIEM) de la Universidad de Antioquia y al grupo Química de los Productos Naturales y los Alimentos, Universidad Nacional, sede Medellín. Todos los experimentos se realizaron bajo las normas y leyes colombianas.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Daglia M, Papetti A, Dacarro C. Isolation of an antibacterial component from roasted coffee. *J Pharmaceutical Biomedical Analysis*. 1998;18(1-2):219-25.
2. Daglia M, Cuzzoni MT, Dacarro C. Antibacterial activity of coffee. *J Agriculture Food Chemistry*. 1994;42(10):2270-2.
3. Roig Y, Mesa J. Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. La Habana: Ministerio de Agricultura; 1988. p. 872.
4. Stehmann JR, Brandao MG. Medicinal plants of Lavras Novas (Minas Gerias, Brazil). *Fitoterapia*. 1995;56(5):515-20.
5. Weniger BM, Rouzier R, Daguilh D. Popular medicine of the central platue of Haiti.  
2. Ethnopharmacological inventory. *J Ethnopharmacol*. 1986;17(1):13-30.
6. Puertas-Mejía MA, Rivera-Echeverry F, Villegas-Guzmán P. Comparación entre el estado de maduración del fruto de café (*Coffea arabica* L.), el contenido de antocianinas y su capacidad antioxidante. *Rev Cubana Plant Med*. 2012;14(4):1-7.
7. FNC. Federación Nacional de Cafeteros [citado Ago 2012]. Disponible en: <http://www.federaciondecafeteros.org/>
8. Haddis A, Devi R. Effect of effluent generated from coffee processing plant on the water bodies and human health in its vicinity. *J Hazardous Materials*. 2008;152(1):259-62.
9. Nabais JV, Carrott P, Ribeiro Carrott MML. Influence of preparation conditions in the textural and chemical properties of activated carbons from a novel biomass precursor: The coffee endocarp. *Bioresource Technology*. 2008;99(15):7224-31.
10. Pandey A, Soccol C, Nigam P. Biotechnological potential of coffee pulp and coffee husk for bioprocesses. *Biochemical Engineering J*. 2000;6(2):153-62.
11. Garavito A, Puerta GI. Utilización del mucílago de café en la alimentación de cerdos. *Rev Cenicafé*. 1998;49(3):231-56.
12. Valencia F. Residuos de la producción cafetera para la producción y uso como abonos orgánicos [citado Ago 2012]. Disponible en: <http://www.cenicafe.org>
13. Orozco AL, Pérez MI, Guevara O. Biotechnological enhancement of coffee pulp residues by solid-state fermentation with *Streptomyces*. Py-GC/MS analysis. *J Analytical Applied Pyrolysis*. 2008;81(2):247-52.
14. Naranjo M, Vélez LT, Rojano BA. Actividad antioxidante de café colombiano de diferentes calidades. *Rev Cubana Plant Med*. 2011;16(2):164-73.
15. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enology Viticulture*. 1965;16(3):144-58.
16. Puertas MA, Mesa AM, Sáez JÁ. *In vitro* radical scavenging activity of two columbian magnoliaceae. *Naturwissenschaften*. 2005;92(8):381-4.

17. Puertas-Mejía MA, Zuleta-Montoya F, Rivera-Echeverry F. Capacidad antioxidante *in vitro* de comfrey (*Symphytum officinale* L.). Rev Cubana Plant Med. 2012;17(1):30-6.

18. Mussatto SI, Ballesteros LF, Martins S. Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. Separation Purification Technology. 2011;83(1):173-9.

Recibido: 20 de septiembre de 2012.

Aprobado: 4 de enero de 2013.

*Miguel A. Puertas Mejía*. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia, A.A. 1226. Medellín, Colombia. Telf. +57(4) 219 5653; Fax +57(4) 219 8612. Correo electrónico: [mpuertas@exactas.udea.edu.co](mailto:mpuertas@exactas.udea.edu.co)