

Extractos de pulpa de café: Una revisión sobre antioxidantes polifenólicos y su actividad antimicrobiana

Coffee pulp extracts: A review of polyphenolic antioxidants and their antimicrobial activity

Saira Rocío Martínez-Alemán*, Francisco Daniel Hernández-Castillo*✉, Cristóbal Noé Aguilar-González**, Raúl Rodríguez-Herrera**

Martínez-Alemán, S. R., Hernández-Castillo, F. D., Aguilar-González, C. N., & Rodríguez-Herrera, R. (2019). Extractos de pulpa de café: Una revisión sobre antioxidantes polifenólicos y su actividad antimicrobiana. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, 27(77), 73-79.

RESUMEN

El descubrimiento e implementación de nuevas estrategias de biorremediación es un campo de gran interés actualmente a nivel mundial. Recientemente, la utilización de extractos acuosos y etanólicos procedentes de plantas ha atraído el interés general debido a que pueden ser obtenidos en el laboratorio y sus efectos pueden analizarse en condiciones controladas dentro de invernaderos, además de que se ha demostrado que no dañan el medio ambiente y sus residuos son fáciles de degradar. De manera interesante, se ha descrito que algunos compuestos también poseen actividad contra patógenos, entre estos se ha encontrado que extractos de la pulpa de café son capaces de inhibir el crecimiento de bacterias patógenas como *Escherichia coli* y

Palabras clave: pulpa de café; subproducto de café; extractos; polifenoles; antioxidantes; actividad antimicrobiana.

Keywords: coffee pulp; coffee byproducts; extracts; polyphenols; antioxidants; antimicrobial activity.

Recibido: 22 de mayo de 2018, aceptado: 13 de noviembre de 2018

* Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, C. P. 25315, Coahuila, México. Correo electrónico: saira.mtz.aleman@hotmail.com; fdanielhc@hotmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6697-4746>; <http://orcid.org/0000-0002-1096-0959>

** Departamento de Investigación en Alimentos, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila. Blvd. V. Carranza s/n esq. con Ing. José Cárdenas Valdés, Saltillo, C. P. 25280, Coahuila, México. Correo electrónico: cn_aguilar@yahoo.com; rrh961@hotmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5867-8672>; <http://orcid.org/0000-0002-6428-4925>

✉ Autor para correspondencia

Staphylococcus aureus. En esta revisión, discutiremos la implicación de los componentes antioxidantes y fitoquímicos de extractos de pulpa de café sobre el crecimiento de bacterias y hongos que ocasionan daño en los alimentos y en la salud humana.

ABSTRACT

The discovery and implementation of new bioremediation strategies is a field of great interest worldwide. Recently, the use of aqueous and ethanolic extracts from plants has attracted general interest because they can be obtained in the laboratory and their effects can be analyzed under controlled conditions in greenhouses, and it has been shown that they do not harm the environment and its residues are easy to degrade. Interestingly, some compounds also possess activity against pathogens, among these it has been found that extracts of the coffee pulp are capable of inhibiting the growth of pathogenic bacteria such as *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. In this review, we will discuss the implication of the antioxidant and phytochemical components of coffee pulp extracts on the growth of bacteria and fungi that cause damage to food and human health.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, el café es una de las bebidas más consumidas, con una producción de 156.6 millones de sacos de 60 kg durante el ciclo 2016-2017. Para obtener el grano que se comercializa es necesario que las cerezas pasen por un proceso de remoción y limpieza, por medio de condiciones secas o húmedas y es a partir del procesamiento húmedo

que se originan diversos subproductos del café, los cuales son considerados principalmente como desecho (Esquivel & Jiménez, 2012; Temis-Pérez, López-Malo Vigil, & Sosa-Morales, 2011); la pulpa de café es el principal subproducto generado (Jaisan, Chase, & Punbusayakul, 2015; Kefale, Redi, & Asfaw, 2012). El valor estimado por cada 2 t de cerezas de café procesadas es de aproximadamente 1 t de pulpa de café (Roussos et al., 1995), por lo que la producción mundial asciende a 22 MMt (Pedraza, Estrada, González, & Castelán, 2016); mientras que en México la producción estimada es de 2 a 3 t/ha por año (López Altunar, Reyes Vega, Rodríguez Herrera, Aguilar González, & Prado-Barragán, 2011).

La pulpa de café es considerada como un subproducto que puede ocasionar graves problemas ambientales principalmente en los países productores de café, como contaminación de agua y suelos; además, su uso como alimento para animales se encuentra restringido por considerarse un alimento poco seguro, debido a los compuestos que contiene como polifenoles y cafeína (López Altunar et al., 2011; López Altunar et al., 2013). Sin embargo, estos componentes de la pulpa de café son considerados como compuestos bioactivos, debido a que presentan propiedades antioxidantes y biológicas (Geremu, Tola, & Sualeh, 2016), las cuales pueden potenciarse mediante la formulación de extractos de pulpa de café con distintos solventes y bajo diversas condiciones.

En la presente revisión se consideraron datos sobre la inhibición del crecimiento microbiano por medio de los compuestos polifenólicos presentes en extractos de pulpa de café, así como el efecto que presentan los compuestos antioxidantes para favorecer la actividad antimicrobiana, además de presentar otras alternativas para el uso de la pulpa de café.

Pulpa de café

Uno de los componentes de la baya o cereza del café es el mesocarpio, también conocido como pulpa de café, ubicada justo debajo del pericarpio (piel) y presenta una textura fibrosa, de coloración amarillenta y con sabor dulce (Heeger, Kosińska-Cagnazzo, Cantergiani, & Andlauer, 2017). La obtención de la pulpa de café es efectuada principalmente mediante el procesamiento húmedo del fruto de café (Esquivel & Jiménez, 2012; Geremu et al., 2016; Heeger et al., 2017), que consiste en colocar las bayas sobre agua para separar a las inmaduras,

que flotan, de las maduras, que se hundan y posteriormente eliminar de manera mecánica la pulpa de las frutas sumergidas mediante un despulpador o presionando la fruta y, por último, los restos de pulpa son eliminados (Esquivel & Jiménez, 2012).

La pulpa es considerada como el principal subproducto del café, representa cerca de 30% del peso seco de la baya entera o alrededor de 40% en frutos frescos; además, por cada kg de cerezas existe un contenido aproximado de 430 g de pulpa (Heeger et al., 2017; Rodríguez-Durán et al., 2014). Los valores nutricionales presentes en la pulpa del café son carbohidratos (50%), fibra (20%), proteínas (7-10%), grasas (1.4-2.5%) y cafeína (0.68-1.3%) (Duangjai et al., 2016; Heeger et al., 2017). En la figura 1 se muestra una porción de pulpa de café previamente seca y molida.

Compuestos fenólicos de la pulpa de café

Las plantas sintetizan metabolitos secundarios que son mejor conocidos como compuestos polifenólicos, su estructura general está conformada por un anillo aromático unido a uno o más grupos hidroxilo (Mercado-Mercado, de la Rosa Carrillo, Wall-Medrano, López-Díaz, & Álvarez-Parrilla, 2013). La pulpa es una importante fuente de compuestos fenólicos, incluyendo 1) flavonoides, con una estructura de 2-fenilcromano C6-C3-C6 formado por un anillo benzeno unido a un anillo heterocíclico primario y en la posición 2 unido a un anillo fenilo, siendo los flavonoles, los flavan-3-oles y las antocianinas las prin-



Figura 1. Pulpa de café molida.
Fotografía del equipo de investigación.

principales subclases presentes en la pulpa de café; 2) ácidos fenólicos, los cuales se subdividen en ácidos hidroxibenzoicos (presentan un grupo carboxílico y uno o más grupos hidroxilo en un anillo aromático) y ácidos hidroxicinámicos (el grupo carboxilo es reemplazado por el grupo $\text{CH}=\text{COOH}$), destacan estos últimos en pulpa de café como ácido cafeico, ácido ferúlico y ácido clorogénico (Brglez Mojzer, Knez Hrnčič, Škerget, Knez, & Bren, 2016; Peñarrieta, Tejeda, Mollinedo, Villa, & Bravo, 2014).

Rodríguez-Durán et al. (2014) analizaron el contenido unido y soluble de hidroxicinamatos en pulpa de café proveniente de siete cultivares de *Coffea arabica* en distintas etapas de maduración, como principal ácido fenólico se encontró al ácido cafeico (72-88%) en la fracción unida, mientras que en la fracción soluble, el más abundante fue el ácido clorogénico (94-98%); por otro lado, el ácido ferúlico y *p*-cumárico fueron detectados en pequeñas cantidades (Rodríguez-Durán et al., 2014).

En otro estudio realizado por Palomino García, Biassetto, Araujo y Bianchi (2015) reportaron que el compuesto fenólico más abundante en la pulpa fermentada con el hongo *Penicillium purpurogenum* fue el ácido clorogénico, con un contenido de 22.8 mg/g, seguido del ácido cafeico con 4.29 mg/g y rutina con 1.95 mg/g (Palomino García et al., 2015). Aparte, Heeger et al. (2017) evaluaron extractos acuosos de pulpa seca y encontraron como polifenoles principales al ácido clorogénico y al ácido protocatecuico, los cuales representaron más de 80% del contenido total de polifenoles; mientras que en cantidades menores a 0.1 mg/g estaban presentes el ácido gálico y rutina (Heeger et al., 2017).

Geremu et al. (2016) evaluaron la cantidad de polifenoles a partir de variedades de pulpa obtenida mediante el uso de solventes y encontraron un contenido total de 1809.9 mg GAE/g en pulpa de la variedad Ababuna extraída con 80% de metanol; mientras que la variedad 741 presentó el menor contenido de polifenoles totales con 489.5 mg GAE/g, mediante etanol a 80% para la extracción (Geremu et al., 2016). También se ha realizado la caracterización de las antocianinas de la pulpa por Murthy, Manjunatha, Sulochannama y Madhava Naidu (2012), donde utilizaron técnicas de cromatografía líquida de alta resolución acoplada con detección de matriz de fotodiodos, ionización por electrospray y espectrometría de masas.

A partir de las antocianinas se originaron 24 ± 2.0 mg de antocianinas monoméricas por cada 100 g de pulpa fresca en peso seco; mientras que la cantidad de polifenoles de la pulpa fue de 4.55 ± 0.15 mg GAE/g-1 (Murthy et al., 2012). Por otro lado, Duangjai et al. (2016) realizaron tres extractos acuosos mediante diferentes procesos de selección y congelación a muestras de pulpa, denominándolos como extractos de pulpa (*coffee pulp extracts* o CPE, por sus siglas en inglés), donde evaluaron el contenido de polifenoles a través de cromatografía líquida-ionización por electrospray-espectrometría de cuadrupolo tiempo de vuelo (LC-ESI-Q-TOF-MS). Se encontraron 29 compuestos clasificados como ácidos orgánicos pequeños, azúcares, esteroides, amidas grasas, ácido hidroxicinámico y alcaloides; mientras que 20 compuestos no pudieron ser identificados. El contenido más alto de polifenoles estaba en el extracto CPE1, además de cafeína y ácido clorogénico en mayor proporción que en CPE2 y CPE3 (Duangjai et al., 2016).

Actividad antioxidante de la pulpa de café

Los alimentos de consumo diario contienen antioxidantes, sustancias que impiden la producción de daño tisular causado por radicales libres, lo cual se lleva a cabo mediante la reducción o eliminación de los mismos; además, los antioxidantes favorecen la disminución del riesgo de enfermedades cardiovasculares, inflamatorias, neurodegenerativas (Parkinson y Alzheimer), hepáticas (cirrosis), diabetes tipo 2 e incluso cáncer (Coronado, Vega y León, Gutiérrez, Vázquez, & Radilla, 2015; Fonseca-García, Calderón-Jaimes, & Rivera, 2014; Pérez-Hernández, Chávez-Quiroz, Medina-Juárez, & Gámez Meza, 2013). Algunos componentes del café como melanoïdinas, ácidos fenólicos, ligninas y cafeína, tienen propiedades antioxidantes, por lo que el consumo de esta bebida representa una ingesta de hasta 64% de antioxidantes (Pérez-Hernández et al., 2013).

La pulpa de café es un subproducto que contiene principalmente ácidos hidroxicinámicos unidos a la pared celular, y también son considerados antioxidantes naturales. Mediante un proceso de fermentación en estado sólido con *Aspergillus tamarii*, Arellano-González, Ramírez-Coronel, Torres-Mancera, Pérez- Morales y Saucedo-Castañeda (2011) evaluaron las propiedades antioxidantes de muestras fermentadas y no fermentadas de pulpa de café extraída mediante metanol acuoso y, por último, realizaron una hidrólisis alcalina.

La actividad antioxidante fue evaluada a través de un método espectrofotométrico usando la concentración de ABTS (2, 2'-azinobis-3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfónico), en donde se encontró mejor actividad antioxidante de los polifenoles extraídos de la pulpa de café fermentada, con un contenido de 47% de ácidos hidroxicinámicos libres, probablemente liberados y metabolizados por la fermentación con *A. tamarii*, a diferencia de la pulpa de café no fermentada (Arellano-González et al., 2011).

Por otro lado, Fonseca-García et al. (2014) analizaron la capacidad antioxidante de los subproductos del café producido en la región norte de Santander, Colombia. Para pulpa de café, mediante el método FRAP (Poder Antioxidante Reductor del Hierro), se obtuvieron de 58.73-72.97 $\mu\text{mol trolox/g}$ café, mientras que por ABTS fueron de 91.49-158 $\mu\text{mol trolox/g}$ café, lo que representan cantidades muy similares a las obtenidas para la actividad antioxidante del pergamino (97.26-131.2 $\mu\text{mol trolox/g}$ café) y cáscara de café (71.78-128.5 $\mu\text{mol trolox/g}$ café) (Fonseca-García et al., 2014).

Otro estudio evaluó la capacidad antioxidante de pulpa de café por la técnica FRAP y encontraron valores similares en pulpa ensilada (206.59 $\mu\text{mol CPE g}^{-1}$ DM) y no ensilada (215.66 $\mu\text{mol trolox g}^{-1}$ DM), demostrando que el ensilado del café es un buen proceso, ya que aumenta el contenido de compuestos como proteínas, fibra y lignina (Salinas Ríos et al., 2014). Jaisan et al. (2015) prepararon extractos de pulpa de café por la técnica de maceración y utilizaron diversos solventes para determinar la actividad antioxidante mediante las pruebas de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) y FRAP; donde establecieron que el extracto de agua mostró mayor actividad antioxidante que los extractos de etanol y metanol, con valores de 3.79 ± 0.26 mmolTrolox, equivalente/100 g CPE por DPPH y 12.54 ± 0.74 mmol ácido ascórbico equivalente/100 g CPE por FRAP. Lo anterior pudo deberse a que el agua tiene mayor polaridad que el etanol y metanol, ya que actúa como mejor secuestrante de radicales en comparación de los solventes con menor polaridad (Jaisan et al., 2015).

Los mismos investigadores evaluaron la actividad antioxidante de una película de quitosano a la que incorporaron extractos acuosos de pulpa mediante la técnica de DPPH y acotaron que el incre-

mento de la concentración de pulpa en las películas mejora la actividad antioxidante desde 5 hasta 23% (Jaisan & Punbusayakul, 2016). En otro estudio realizado por Duangjai et al. (2016) determinaron la actividad antioxidante mediante las pruebas de ABTS y DPPH con el valor de CMI (concentración mínima inhibitoria) a tres extractos acuosos de pulpa de café (CPE1, CPE2 y CPE3), la mayor actividad antioxidante se presentó en el extracto CPE1 con valores de 18 $\mu\text{g/ml}$ (ABTS) and 82 $\mu\text{g/ml}$ (DPPH) (Duangjai et al., 2016). Aparte, la evaluación de la actividad antioxidante de cuatro variedades de pulpa de café (Ababuna, Dessu, 74110 y 741) con el valor de CMI y por medio de acetona, etanol y metanol como solventes de extracción en donde se estableció que la pulpa de café de la variedad Ababuna extraída con metanol fue la que mostró una capacidad antioxidante con 70% de inhibición, superior a las otras variedades (Geremu et al., 2016).

Actividad antimicrobiana de la pulpa de café y sus componentes

Existe poca información que establezca la actividad antimicrobiana del café o de alguno de sus componentes, como en el estudio realizado por Almeida, Farah, Silva, Nunan y Glória (2006), donde evaluaron la actividad antibacteriana de extractos acuosos de café (A, B y C) frente a enterobacterias (*Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii*, *Salmonella entérica*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus hauseri*, *Escherichia coli* y *Klebsiella oxytoca*) mediante el método de difusión en disco con soluciones de 2.0 mg/ml de cafeína, trigonelina, ácido clorogénico, cafeico y protocatecuico. Al evaluar los extractos de café se observó que la cepa de *C. freundii* fue la menos sensible, ya que presentó diámetros más pequeños de inhibición (7.1, 6.9 y 7.0 mm), mientras que la de *P. hauseri* fue la más sensible, con diámetros más grandes en la zona de inhibición (9.2, 9.3 y 9.8 mm); por otro lado, en la evaluación de los compuestos químicos del café, la cepa de *C. freundii* fue menos sensible al ácido clorogénico y protocatecuico (6.8 y 7.0 mm, respectivamente) a diferencia de *E. cloacae* (9.6 y 10.0 mm), que fue la cepa más sensible a estos compuestos; mientras que la cafeína fue menos efectiva contra *C. freundii*, *E. aerogenes* y *K. oxytoca*; y para el ácido cafeico y la trigonelina no hubo diferencia significativa en la inhibición de todas las bacterias evaluadas, por lo que varios de estos compuestos del café podrían ser considerados agentes antimicrobianos (Almeida et al., 2006).

Por otro lado, la actividad antibacteriana de un extracto acuoso de pulpa de café obtenido por maceración frente a las bacterias gram negativas *E. coli* y *Bacillus subtilis*, y las bacterias gram positivas *S. aureus*, *Salmonella typhimurium* y *Listeria monocytogenes*. El mayor efecto inhibitorio del extracto se presentó contra las bacterias gram positivas, en donde *S. aureus* fue la bacteria más resistente y todas las bacterias a excepción de *E. coli* fueron inactivadas por completo a una concentración de 54.95 mg/ml. El efecto de inhibición puede ser consecuencia de la conformación estructural de la pared celular de las bacterias, ya que las gram negativas tienen la pared celular rodeada con una membrana externa que impide el paso de compuestos hidrofóbicos (Jaisan et al., 2015). De manera similar, Duangjai et al. (2016) evaluaron la actividad antibacteriana de extractos acuosos de pulpa de café denominados (CPE1, CPE2 y CPE3) contra las gram positivas *Staphylococcus epidermidis* y *S. aureus*, y las bacterias gram negativas *E. coli* y *P. aeruginosa*, a través del método de difusión en pocillos de agar.

El extracto que mostró el mayor efecto inhibitorio frente a todas las bacterias fue CPE1, además la zona de inhibición de CPE1 contra las gram positivas fue mayor al compararlo con el de gram negativas. El extracto CPE1 fue más eficaz contra *S. epidermidis* al obtener un valor de 4.69 mg/ml en la CMI; además de que el extracto únicamente tiene efecto bacteriostático, ya que el valor de CMB fue de 300 mg/ml, por lo que no es considerado como agente antibacteriano (Duangjai et al., 2016).

Existe poca información sobre la actividad antifúngica de compuestos del café o de extractos de pulpa de café. Al respecto, Nonthakaew, Matan, Aewsiri y Matan (2015) vieron la necesidad de tomar medidas alternativas para evitar el uso de bolsas de plástico para proteger, almacenar y transportar alimentos; además de que estos son susceptibles no solo al ataque de bacterias, sino también de hongos. Debido a que el café contiene compuestos como cafeína, ácido clorogénico y polifenoles, de los cuales ya se ha reportado que presentan actividad frente a bacterias fitopatógenas, que dañan los alimentos, e incluso que afectan a los humanos, decidieron evaluar la actividad antifúngica del extracto de café molido (CSCGE) en la primera, segunda y tercera extracción, y del extracto crudo de café (CCE) en las primeras dos extracciones contra los hongos *A. niger*, *Aspergillus flavus*, *Eurotium amstelodami*, *P. chrysogenum* y *Penicillium citrinum*;

lo anterior mediante el método de dilución en agar para determinar el valor de la CMI. Dentro de los resultados obtuvieron que los valores de CMI fueron de 100-230 µg/ml y de 300-460 µg/ml para la primera y segunda extracción de los extractos CCE y CSCGE, respectivamente. Lo anterior determinó que el hongo más resistente fue *A. flavus* y que los extractos CCE fueron más efectivos contra los hongos evaluados que los CSCGE, lo cual depende en gran parte de la polaridad de los solventes usados para la extracción, ya que hay compuestos, como los alcaloides, que no pueden disolverse bien en agua. En este estudio fue posible evaluar en condiciones *in vivo* la actividad antifúngica de los extractos, se realizaron pruebas en la superficie de vainas de hojas de palma areca durante el almacenamiento, en donde se observó una inhibición total del crecimiento de los hongos mediante la segunda extracción de CSCGE a 460 µg/ml durante 21 días, lo cual fue disminuyendo hasta el día 42, cuando no pudo evitarse el crecimiento de los hongos; mientras que en el tratamiento control los hongos crecieron en un lapso de 3 días, demostrando que estos extractos pueden alargar la vida útil no solo de las hojas de palma, sino de otras plantas y alimentos (Nonthakaew et al., 2015). Lo anterior demuestra que el uso de extractos de pulpa de café puede utilizarse para controlar el crecimiento y desarrollo de agentes microbianos.

Otros usos de la pulpa de café

La industria del café genera grandes cantidades de pulpa durante el procesamiento de la fruta, por lo que en años recientes se ha buscado la manera de utilizar este subproducto. Algunas opciones han incluido la producción de enzimas como amilasa (Murthy, Naidu, & Srinivas, 2009), pectinasa (Pushpa, 2011) y tannasa (Adwitiya & Venkatachalapathy, 2016); así como la transformación de taninos de pulpa de café con *Penicillium verrucosum* para producir ácido gálico (Bhoite, Navya, & Murthy, 2013). La pulpa también puede utilizarse como suplemento en las dietas de animales (Salinas-Ríos et al., 2015); en otros productos alimenticios como saborizantes, mermeladas, jaleas y jugos procesados utilizando pulpa de café fresca (Murthy et al., 2012), o tener uso como material para producir colorantes alimenticios como antocianinas (Hartati, Riwayati, & Kurniasari, 2012). También es posible fermentar extractos de pulpa para producir etanol (Tavares Menezes et al., 2013) e incluso el elemento estudiado es útil para fabricar briquetas y píldoras por generación de calor (Cubero-Abarca, Moya, Valaret, & Tomazello Filho, 2014).

CONCLUSIONES

La pulpa de café es un subproducto poco valorado, ya que normalmente se desecha durante el proceso para la obtención del mismo; a pesar de esto puede ser utilizado para inhibir el crecimiento de microorganismos como hongos fitopatógenos, donde no se ha explorado el potencial que puede llegar a tener, ya sea a través de extractos acuosos y etanólicos o mediante el aislamiento y purificación

de componentes importantes como la cafeína, lo cual sería de gran utilidad para el control de enfermedades fúngicas en campo y en poscosecha.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer el apoyo de los miembros del Departamento de Parasitología (UAAAN Saltillo), y del Departamento de Investigación en Alimentos (UA de C) durante la preparación de la presente revisión científica.

REFERENCIAS

- Adwitiya, D., & Venkatachalapathy, N. (2016). Profitable exploitation of coffee pulp- a review. *International Journal of Applied and Natural Sciences*, 5(1), 75-82.
- Almeida, A. A. P., Farah, A., Silva, D. A. M., Nunan, E. A., & Glória, B. A. (2006). Antibacterial activity of coffee extracts and selected coffee chemical compounds against Enterobacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(23), 8738- 8743. doi: 10.1021/jf0617317
- Arellano-González, M. A., Ramírez-Coronel, M. A., Torres-Mancera, M. T., Pérez- Morales, G. G., & Saucedo-Castañeda, G. (2011). Antioxidant activity of fermented and nonfermented coffee (*Coffea arabica*) pulp extracts. *Food Technology and Biotechnology*, 49(3), 374-378.
- Bhoite, R. N., Navya, P. N., & Murthy, P. S. (2013). Statistical optimization of bioprocess parameters for enhanced gallic acid production from coffee pulp tannins by *Penicillium verrucosum*. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 43(4), 350-363. doi:10.1080/10826068.2012.737399
- Brglez Mojzer, E., Knez Hrnčič, M., Škerget, M., Knez, Ž., & Bren, U. (2016). Polyphenols: Extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects. *Molecules*, 21(7), 901. doi: 10.3390/molecules21070901
- Coronado, M., Vega y León, S., Gutiérrez, R., Vázquez, M., & Radilla, C. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista Chilena de Nutrición*, 42(2), 206-212. doi: 10.4067/S0717-75182015000200014
- Cubero-Abarca, R., Moya, R., Valaret, J., & Tomazello Filho, M. (2014). Use of coffee (*Coffea arabica*) pulp for the production of briquettes and pellets for heat generation. *Ciência e Agrotecnologia*, 38(5), 461-470. doi: 10.1590/S1413-70542014000500005
- Duangjai, A., Suphrom, N., Wungrath, J., Ontawong, A., Nuengchamnon, N., & Yosboonruang, A. (2016). Comparison of antioxidant, antimicrobial activities and chemical profiles of three coffee (*Coffea arabica* L.) pulp aqueous extracts. *Integrative Medicine Research*, 5(4), 324-331. doi: 10.1016/j.imr.2016.09.001
- Esquivel, P., & Jiménez, V. M. (2012). Functional properties of coffee and coffee by- products. *Food Research International*, 46(2), 488-495. doi: 10.1016/j.foodres.2011.05.028
- Fonseca-García, L., Calderón-Jaimes, L., & Rivera, M. (2014). Capacidad antioxidante y contenido de fenoles en café y subproductos del café producido y comercializado en norte de Santander (Colombia). *Vitae*, 21(3), 228-236.
- Geremu, M., Tola, Y. B., & Sualeh, A. (2016). Extraction and determination of total polyphenols and antioxidant capacity of red coffee (*Coffea arabica* L.) pulp of wet processing plants. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 3(25), 1-6. doi: 10.1186/s40538-016-0077-1
- Hartati, I., Riwayati, I., & Kurniasari, L. (2012). Potential production of food colorant from coffee pulp. *Prosiding SNST Fakultas Teknik*, 1(1), 66-71.
- Heeger, A., Kosińska-Cagnazzo, A., Cantergiani, E., & Andlauer, W. (2017). Bioactives of coffee cherry pulp and its utilisation for production of Cascara beverage. *Food Chemistry*, 221, 969-975. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.11.067
- Jaisan, C., Chase, S., & Punbusayakul, N. (2015). Antioxidant and antimicrobial activities of various solvents extracts of arabica coffee pulp. *Journal on Processing and Energy in Agriculture*, 19(5), 224-227.
- Jaisan, C., & Punbusayakul, N. (2016). Development of coffee pulp extract- incorporated chitosan film and its antimicrobial and antioxidant activities. *KKU Research Journal*, 21(14 Suppl.), 140-149. doi: 10.14456/kkurj.2016.17
- Kefale, A., Redi, M., & Asfaw, A. (2012). Potential of bioethanol production and optimization test from agricultural waste: The case of wet coffee processing waste (pulp). *International Journal of Renewable Energy Research*, 2(3), 446-450.

- López Altunar, T., Prado-Barragán, A., Nevárez-Moorillón, G. V., Contreras Esquivel, J. C., Rodríguez Herrera, R., & Aguilar González, C. N. (2013). Incremento de la capacidad antioxidante de extractos de pulpa de café por fermentación láctica en medio sólido. *CyTA-Journal of Food*, 11(4), 359-365. doi:10.1080/19476337.2013.773563
- López Altunar, T., Reyes Vega, M. L., Rodríguez Herrera, R., Aguilar González, C. N., & Prado-Barragán, L. A. (2011). La pulpa de café, un residuo fuente de antioxidantes polifenólicos. *CienciCierto*, 7(25). Recuperado de <http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/CienciaCierto/CC25/1pulpa.html>
- Mercado-Mercado, G., de la Rosa Carrillo, L., Wall-Medrano, A., López-Díaz, J. A., & Álvarez-Parrilla, E. (2013). Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. *Nutrición Hospitalaria*, 28(1), 36-46. doi: 10.3305/nh.2013.28.1.6298
- Murthy, P. S., Manjunatha, M. R., Sulochannama, G., & Madhava Naidu, M. (2012). Extraction, characterization and bioactivity of coffee anthocyanins. *European Journal of Biological Sciences*, 4(1), 13-19. doi: 10.5829/idosi.ejbs.2012.4.1.6149
- Murthy, P. S., Naidu, M. M., & Srinivas, P. (2009). Production of α -amylase under solid- state fermentation utilizing coffee waste. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 84(8), 1246-1249. doi: 10.1002/jctb.2142
- Nonthakaew, A., Matan, N., Aewsiri, T., & Matan, N. (2015). Antifungal activity of crude extracts of coffee and spent coffee ground on areca palm leaf sheath (*Areca catechu*) based food packaging. *Packaging Technology and Science. An International Journal*, 28(7), 633-645. doi: 10.1002/pts.2132
- Palomino García, L. R., Biasetto, C. R., Araujo, A. R., & Bianchi, V. L. (2015). Enhanced extraction of phenolic compounds from coffee industry's residues through solid state fermentation by *Penicillium purpurogenum*. *Food Science and Technology*, 35(4), 704-711. doi: 10.1590/1678-457X.6834
- Pedraza, B. P. E., Estrada, L. I., González, R. M., & Castelán, O. O. A. (2016). La pulpa de café, un subproducto valioso para la alimentación del ganado lechero en los trópicos: Evaluación de su potencial. En XVII Congreso Bienal AMENA. Recuperado de <https://www.engormix.com/ganaderia-leche/articulos/pulpa-cafe-subproducto-valioso-f33082.htm>
- Peñarrieta, J. M., Tejeda, L., Mollinedo, P., Villa, J. L., & Bravo, J. A. (2014). Phenolic compounds in food. *Revista Boliviana de Química*, 31(2), 68-81.
- Pérez-Hernández, L. M., Chávez-Quiroz, K., Medina-Juárez, L. Á., & Gámez Meza, N. (2013). Compuestos fenólicos, melanoidinas y actividad antioxidante de café verde y procesado de las especies *Coffea arabica* y *Coffea canephora*. *Biotecnia*, 15(1), 51-56. Recuperado de <https://biotecnia.unison.mx/index.php/biotecnia/article/view/136/128>
- Pushpa, S. M. (2011). *Biotechnological approaches to production of bioactives from coffee by-products* (Tesis doctoral). Recuperada de <http://ir.cftri.com/10749/>
- Rodríguez-Durán, L. V., Ramírez-Coronel, M. A., Aranda-Delgado, E. A., Nampoothiri, K. M., Favela-Torres, E., Aguilar González, C. N., & Saucedo-Castañeda, G. (2014). Soluble and bound hydroxycinnamates in coffee pulp (*Coffea arabica*) from seven cultivars at three ripening stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(31), 7869-7876. doi: 10.1021/jf5014956
- Roussos, S., Aquíhuatl, M. A., Trejo-Hernández, M. R., Gaime Perraud, I., Favela, E., Ramakrishna, M., Raimbault, M., & Viniegra-González, G. (1995). Biotechnological management of coffee pulp-isolation, screening, characterization, selection of caffeine-degrading fungi and natural microflora present in coffee pulp and husk. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 42(5), 756-762. doi: 10.1007/BF00171958
- Salinas Ríos, T., Ortega Cerrilla, M. E., Sánchez Torres Esqueda, M. T., Hernández Bautista, J., Díaz Cruz, A., Figueroa Velasco, J. L., Guinzberg Perrusquía, R., & Cordero Mora, J. L. (2015). Productive performance and oxidative status of sheep fed diets supplemented with coffee pulp. *Small Ruminant Research*, 123(1), 17-21. doi: 10.1016/j.smallrumres.2014.09.008
- Salinas Ríos, T., Sánchez Torres, T., Ortega Cerrilla, M. E., Soto Hernández, M., Díaz Cruz, A., Hernández Bautista, J., Nava Cuéllar, C., & Vaquera Huerta, H. (2014). Changes in composition, antioxidant content, and antioxidant capacity of coffee pulp during the ensiling process. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 43(9), 492-498. doi: 10.1590/S1516-35982014000900006
- Tavares Menezes, E. G., Ribeiro Do Carmo, J., Tavares Menezes, A.G., Lembi Ferreira Alves, J. G., Pimenta, C. J., & Queiroz, F. (2013). Use of different extracts of coffee pulp for the production of bioethanol. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 169(2), 673-687. doi: 10.1007/s12010-012-0030-0
- Temis-Pérez, A. L., López-Malo Vigil, A., & Sosa-Morales, M. E. (2011). Producción de café (*Coffea arabica* L.): Cultivo, beneficio, plagas y enfermedades. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 5(2), 54-74.