



SUBSECRETARÍA DE EDUCACIÓN SUPERIOR
TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO



Efecto del tratamiento térmico sobre la actividad antioxidante en café percolado

TESIS

Que para obtener el Grado de
Maestro en Ciencias en Ingeniería Bioquímica

Presenta:

I.B.Q Consuelo Martínez Ruiz

Dra. María Eva Rodríguez Huevo, Directora de Tesis

Dra. Angélica Román Guerrero, Asesora de tesis

Dra. Ruth Pedroza Islas, Asesora de tesis

Ecatepec de Morelos, Estado de México, Noviembre del 2019



GOBIERNO DEL
ESTADO DE MÉXICO

AVISO DE TERMINACIÓN DE PROYECTO
DE TESIS

TIT04-ANEXO PM



DIRECCIÓN ACADÉMICA

DIVISIÓN ACADÉMICA DE INGENIERÍA QUÍMICA Y BIOQUÍMICA

PROGRAMA DE POSGRADO: MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA QUÍMICA

Folio: MCIBQ/2015/MARC696105

Fecha: 22 Noviembre del 2015

Después de las revisiones, observaciones y seguimiento de recomendaciones hechas al proyecto de tesis: EFECTO DEL TRATAMIENTO TÉRMICO SOBRE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN CAFÉ PERCOLADO, que como requisito para obtener el grado de maestría presenta

<u>MARTÍNEZ</u>	<u>RUIZ</u>	<u>CONSUELO</u>
Apellido paterno	Apellido materno	Nombres (s)

Matrícula: 201521886

El Director de Proyecto Dra. MARÍA EVA RODRÍGUEZ HUEZO da por concluido su desarrollo para proceder a la impresión del trabajo correspondiente y la defensa pública del mismo.

Vs. Bn. COMITÉ TUTORIAL

Dra. María Eva Rodríguez Huevo
Director

Dra. Angélica Román Guerrero
Asesor

Dra. Ruth Pedraza Islas
Asesora

Dra. María Aurora Martínez Trujillo
Asesora



Elaboró:	Revisó:	Vs. Bn.:
Dra. María Eva Rodríguez Huevo Director de Proyecto	Dr. Ignacio García Martínez Coordinador de Posgrado	M. en Q. Judith Salazar Ruiz Jefe de División

DIRECCIÓN ACADÉMICA
 DIVISIÓN ACADÉMICA DE INGENIERÍA QUÍMICA Y BIOQUÍMICA
 PROGRAMA DE POSGRADO MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA BIOQUÍMICA

Fecha: 20 de Noviembre del 2018

Datos generales
Nombre del alumno:

Martínez	Ruiz	Consuelo
Apellido paterno	Apellido materno	Nombre(s)

Matrícula: 201521886

PROYECTO: **EFECTO DEL TRATAMIENTO TÉRMICO SOBRE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN CAFÉ PERCOLADO**

DIRECTOR: **Dra. María Eva Rodríguez Huezco**

Dictamen:

Con base en el registro No. MCIRG0215MARC690105 correspondiente al periodo escolar 2015-16, asignado al proyecto de tesis **EFECTO DEL TRATAMIENTO TÉRMICO SOBRE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN CAFÉ PERCOLADO** y presentado por el alumno referido, y después de haber sido desarrolladas las actividades requeridas, el Comité Tutorial, conformado por los integrantes que forman el caso, ha determinado que SI (X) NO () han sido cubiertos en su totalidad los requisitos que permiten a esta División Académica liberar al alumno de los trámites académicos para tal efecto e iniciar el trámite de obtención de grado de maestría en la Unidad de Registro y Certificación de este Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec.

Observaciones:

Comité Tutorial

<p><u><i>María Eva Rodríguez Huezco</i></u> Dra. María Eva Rodríguez Huezco Director</p>	<p><u><i>Angélica Román Guerrero</i></u> Dra. Angélica Román Guerrero Asesora</p>
<p><u><i>Ruth Pedroza Islas</i></u> Dra. Ruth Pedroza Islas Asesora</p>	<p><u><i>Maria Rocío Martínez Trujillo</i></u> Maria Rocío Martínez Trujillo Asesora</p>

Elaboró	Revisó y Validó	Emitió
<p><u><i>Francisco García Martínez</i></u> M. en C. Francisco García Martínez Coordinador de Posgrado</p>	<p><u><i>Judit Cárdenas Ruiz</i></u> M. en C. Judit Cárdenas Ruiz Jefe de División</p>	<p><u><i>Armando Rocío Martínez</i></u> M. en C. Armando Rocío Martínez Director Académico</p>



El Posgrado de Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica del Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec está incluido en el Padrón Nacional de Posgrado, con categoría de Alto Nivel, con el número de referencia 1665-0.

Agradecimientos

Gracias al creador por permitirme existir y seguir viviendo, por dejarme disfrutar de mis seres amados: padres, esposo, hijos y demás familiares y amigos.

Gracias mamá, porque sé que a pesar de tus impedimentos físicos, me continuas amando y que si Dios te diera la oportunidad de demostrármelo, me seguirías haciendo sentir tu hija amada.....eres mi ejemplo de madre a seguir, te amo.

Gracias padre, por tu apoyo, por compartir conmigo los buenos y malos momentos, haciéndome sentir que soy importante en tu vida.....espero seguirte disfrutando y amando muchos años más.

Gracias Armando por ser mi compañero de vida, mi amigo incondicional, por seguir caminado junto a mí, sin tu apoyo, este objetivo podría haber sido más difícil de alcanzar.....te amo mucho.

Gracias Uriel y Mitzue, por ser los hijos que me inspiran y motivan, porque me comprometen a ser dinámica en la forma de ver la vida.....los amo con todo mi corazón.

Gracias Dra. Eva por haber creído en mí y apoyarme en la culminación de este trabajo.....hoy sé que no solo es mi asesora y compañera de trabajo, sino una amiga en la que puedo confiar.

A la Dra. Angelica, porque sin conocerme me dio su confianza y apoyo, abriéndome las puertas de su laboratorio y compartiendo conmigo sus conocimientos...muchas gracias.

A la Dra. Ruth, por el valioso tiempo que le prestó al presente trabajo.....muchas gracias.

Gracias a las autoridades del Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec, por brindarme las facilidades para la culminación de este posgrado.

Índice

0.1	Resumen	xi
	Abstract.....	xii
1	Introducción.....	1
2	Justificación.....	3
3	Objetivos	8
3.1	Objetivo general	8
3.2	Objetivos particulares.....	8
4	Antecedentes	9
4.1	Origen del café	9
4.2	Producción y consumo del café	10
4.3	Generalidades de la planta de café.....	13
4.4	Dos especies importantes de café: Arábica y Robusta.....	14
4.5	Proceso productivo del café	15
4.6	Productos de las reacciones de Maillar.....	17
4.7	La obesidad y el estrés oxidativo celular	18
4.8	Compuestos presentes en el café y los beneficios de tomarlo.....	19
5	Materiales y Métodos	26
5.1	Materiales.....	27
5.2	Preparación del café percolado	28
5.3	Ensayo colorimétrico	29
5.4	Ensayo antioxidante DPPH.....	31
5.5	Contenido de fenoles totales.....	32

5.6	Capacidad antioxidante total	33
5.7	Contenido de cafeína.....	35
5.8	Voltametría	37
5.9	Espectroscopía ATR-FTIR.....	38
5.10	Análisis estadístico	39
6	Resultados y Discusiones	40
7	Conclusiones	49
8	Bibliografía	50
9	Anexos.....	57

Índice de Tablas

Tabla 1. Parámetros de la evolución del color del café percolado con respecto al tiempo de calentamiento	41
Tabla 2. Evolución de las propiedades antioxidantes del café percolado con respecto al tiempo de calentamiento	42
Tabla 3 Valores de Absorbancia obtenidos en el ensayo DPPH, para la elaboración de la curva estandar	57
Tabla 4 Valores de Absorbancia obtenidos en el ensayo de Fenoles Totales, para la elaboración de la curva estandar	58
Tabla 5 Valores de Absorbancia obtenidos en el ensayo de FRAP, para la elaboración de la curva estandar	59
Tabla 6 Valores calculados de las áreas de los picos a partir de los cromatogramas de HPLC.....	61

Índice de Figuras

Fig. 1 Tamaño de mercado de consumo por categoría de café (2016)	11
Fig. 2 Satisfacción de los requerimientos nacionales	11
Fig. 3 Volumen de café por sector en México en 2016 y su pronóstico (toneladas)	12
Fig. 4: Imagen de café cereza y granos de café tostado	14
Fig. 5: Granos de café Arábica y Robusta.....	15
Fig. 6: Cortes transversales del grano de café antes y después del proceso de tostado	16
Fig. 7 Estructura de la molécula de cafeína	20
Fig. 8 Estructura químicas de ácidos clorogénicos y sus derivados, presentes en el café	22
Fig. 9 Diagrama del desarrollo experimental	26
Fig. 10 Muestras de café percolado	28
Fig. 11 Colorímetro.....	30
Fig. 12 Espectrofotómetro, Spectronics Genesys.....	31
Fig. 13 Prueba de DPPH aplicada a las diferentes muestras de CP	32
Fig. 14 Fenoles totales mediante Folin-Ciocalteu: preparación de la curva estándar usando Trolox como referencia.....	33
Fig. 15 Capacidad antioxidante total mediante el ensayo con FRAP: preparación de la curva estándar usando Trolox como referencia	34
Fig. 16 Cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC).....	35
Fig. 17 Potenciostato/Galvanostato PARSTAT	38

Fig. 18 Espectrofotómetro Pekin Elmer.....	39
Fig. 19 Voltamperogramas del café percolado, en tres tiempos diferentes. Con fines de comparación se incluye el voltamperograma del agua empleada	43
Fig. 20 Capacitancia eléctrica estimada por integración en el primer pico de oxidación	45
Fig. 21 FTIR del café percolado correspondiente a tres diferentes tiempos de calentamiento.....	46
Fig. 22 Curva estándar para la determinación de la captación de radicales libres con DPPH y Trolox	58
Fig. 23 Curva estándar para la dterminación de Fenoles Totales, empleando Follin-Ciocalteu y Trolox	59
Fig. 24 Curva estándar para la determinación de Capacidad antioxidante Total, empleando FRAP	60
Fig. 25 Cromatograma con HPLC del estandar de cafeína.....	60
Fig. 26 Curva estándar para la determinación del contenido de cafeína.....	61

0.1 Resumen

La bebida de café es una de las más conocidas y consumidas en todo el mundo, no obstante su popularidad, aún existen algunas de sus propiedades que no han sido estudiadas, por tal motivo, se investigaron las propiedades antioxidantes del café percolado (CP) preparado en una cafetera de goteo a la cual se le adicionó 400 mL de agua, en su filtro se depositaron 24 g de café tostado y molido. El CP fue recolectado y mantenido caliente (75°C) durante 8 h, en diferentes recipientes de vidrio a los cuales se les monitoreó y determinó la actividad antioxidante mediante el ensayo DPPH, FRAP, contenido total de fenoles, índice de pardeamiento y voltametría. Se encontró que la actividad antioxidante mostró un rápido incremento durante las primeras horas (1-1.5h). A partir de la segunda hora, los valores de FRAP, fenoles totales (FT) y cafeína, permanecieron casi constantes, no así los valores de DPPH y la capacidad oxidativa (por voltametría), los cuales se vieron disminuidos, probablemente debido a la oxidación de los compuestos antioxidantes por estrés oxidativo inducido por factores ambientales adversos. Se planteó que durante el calentamiento del CP, se formaron productos de reacciones de Maillard (PRM), posiblemente debido a la degradación de los ácidos clorogénicos (ACGs) que se complejaron con proteínas/polisacáridos, originando con ello compuestos antioxidantes, tales como las melanoidinas.

Abstract

Coffee is one of the most well known and consumed beverages worldwide. Despite its popularity, not all its properties have been studied. So in this work coffee was brewed (CB) in a standard filter coffeemaker. Four hundred milliliters of water were put into the coffee maker reservoir, while twenty four grams of ground toasted coffee grain were put into the paper filter. The coffee brew (CB) was collected in a glass flask monitored during 8 h for its antioxidant activity, browning index and voltammetry. The antioxidant activity showed a fast increase during the first 1.0-1.5 h. After about 2 h, the FRAP, TP and caffeine values remained practically constant, but, the DPPH and oxidative capacity (by voltammetry) values decreased. The latter results were probably due to the oxidation of the antioxidant compounds due to environmental stress. It was postulated that Maillard reactions products (MRP) were formed in the heated CB, probably due to the degradation of chlorogenic acids (CGAs) that complexed with proteins/polysaccharides, giving way to the formation of potent antioxidant compounds such as melanoidins.

1 Introducción

Para el periodo 2018-2019, la producción de café a nivel mundial se incrementó en un 3.7%. Sudamérica representó el 47% de la producción mundial, seguida de Asia y Oceanía con el 29%, América Central y México con el 13% y África con el 11%. En lo que se refiere a las exportaciones, la variedad Arábica fue en aumento; de 70,95 millones de sacos (en el 2018) frente a 70,51 millones en el año anterior, presentándose un aumento del 1.8% en esta variedad. (OIC, 2018).

La importancia económica del café se debe especialmente a que con sus granos tostados y molidos se prepara una infusión, una bebida de café, siendo las especies Arábica (*Coffea arabica*) y la Robusta (*Coffea canephora*), las más utilizadas (Esquivel *et al.*, 2012).

La bebida de café es una de las más populares y consumidas en todo el mundo (Karabudak *et al.*, 2015), esto puede deberse a su distintivo sabor, consecuencia de sus precursores: grasa, cafeína, trigonelina, ácido clorogénico y sacarosa, donde esta última juega un papel importante en las reacciones de Maillard (Avelino *et al.*, 2005). Así mismo, existen diversas formas para preparar dicha bebida, por ejemplo: árabe o turco, soluble o instantáneo, expreso, capuchino, moka, émbolo o cafetera (OIC, 2018) del cual se obtiene la bebida de café percolado.

Se conoce que la bebida de café tiene propiedades estimulantes, debida principalmente a la cafeína, sin embargo, se han encontrado diversos compuestos bioactivos con propiedades nutraceuticas, y que pueden prevenir enfermedades, por lo que se le ha clasificado como una bebida funcional. Si bien la calidad sensorial de la bebida de café depende de varios factores, como la variedad del café, también su contenido de sustancias bioactivas, que no solo dependen de dicha

variedad de café sino también de diversos factores como; las condiciones ambientales y la tecnología de su procesado, entre otros (Vega *et al.*, 2017).

Anteriores estudios, han demostrado que el consumo habitual de esta bebida de café puede generar beneficios a la salud reduciendo el riesgo de mortalidad debida a enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2, enfermedad hepática, así como enfermedades degenerativas como el Alzheimer y Parkinson, ciertos tipos de cáncer y la obesidad. (Karabudak *et al.*, 2015). Esto se debe a que el grano de café contiene diversos compuestos bioactivos que trascienden a la infusión que se realiza con él, por ejemplo, el café tiene un alto contenido de ácidos fenólicos, particularmente de ácidos clorogénicos (ACGs), que van de 2.3 a 26 g.kg⁻¹ (Ramirez-Velasco *et al.*, 2016), en este sentido es importante señalar que la concentración de ellas depende de la técnica de extracción utilizada (Vega *et al.*, 2017), por lo que, si se desea cuantificar la cantidad que se encuentra presente en una “taza de café”, es importante extraer dichas sustancias a partir de muestras elaboradas como comúnmente se hace la bebida. Por tal motivo, el objetivo de este estudio fue el de determinar la evolución de la actividad antioxidante, evaluada por diferentes métodos, en un café percolado (CP) obtenido usando el método de filtración con goteo en una cafetera, provista con un filtro estándar donde se depositaron los granos de café previamente tostados y molidos, y cuya infusión obtenida se mantuvo caliente a 75 ° C durante 8 h.

2 Justificación

La malnutrición es una problemática que enfrentan muchos países en el mundo, debida, por un lado, a los elevados índices de desnutrición y por otro lado, a las tasas crecientes de obesidad (OMS. Organización Mundial de la Salud, 2016).

La obesidad, es una enfermedad no transmisible (ENT) que obedece a diferentes factores: los genéticos, ambientales y al estilo de vida. La causa fundamental del sobrepeso y la obesidad es un desequilibrio energético entre las calorías que se consumen y las que se gastan, ocasionando con ello un aumento en los depósitos de grasa corporal y en consecuencia, el aumento de peso (Barquera, 2010).

Como ya se mencionó, la obesidad es una enfermedad cuyas causas se pueden prevenir, pero a pesar de ello es una de las principales enfermedades que pueden causar la muerte y varios trastornos metabólicos como; la diabetes tipo 2, la hipertensión, enfermedades del corazón, así como algunas otras enfermedades crónicas tales como la osteoartritis y la apnea del sueño (Berenbaum *et al.*, 2013). De acuerdo a lo reportado por la Organización Mundial de la Salud (OMS), desde 1975 la obesidad se ha casi triplicado en todo el mundo, ejemplo de ello es que, en el 2016 había más de 340 millones de niños y adolescentes (individuos entre 5 y 19 años de edad) que tenían sobrepeso u obesidad, mientras que el 39% de las personas adultas (individuos de 18 o más años de edad) presentaban sobrepeso y el 13% tenían obesidad. Este aumento en el porcentaje de personas que presentan sobrepeso u obesidad es un fenómeno que está ocurriendo en todo el mundo, con excepción de algunas regiones como África subsahariana y Asia ((OMS) Organización Mundial de la Salud , 2017)

México es el segundo país del mundo con más personas obesas –solo por detrás de EE UU– y ocupa el sexto lugar en muertes causadas por diabetes. (Pérez, 2015)

Además de los factores que ya se han mencionado que pueden provocar la obesidad y/o sobrepeso, existen estudios epidemiológicos que reportan una relación directa entre el estrés oxidativo y la acumulación de grasa en el organismo, debido a que constan evidencias que indican que la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) son una característica de la aterosclerosis (acumulación excesiva de grasa en el interior de las arterias), y estudios posteriores sugieren que el estrés oxidativo incide sobre los factores de riesgo para desarrollar aterosclerosis prematura (Keaney *et al.*, 2003). Algunas evidencias proponen que el estrés oxidativo no solo es una consecuencia, sino que también puede ser un requisito para la adipogénesis (formación de tejido graso), en cuyo proceso aumenta el nivel de especies reactivas de oxígeno (EROs) (Ghavipour *et al.*, 2015). Así mismo, se ha reportado una fuerte correlación positiva entre la magnitud de la adiposidad y los trastornos que ésta provoca, como la hipertensión, la dislipemia y la intolerancia a la glucosa (Weisberg *et al.*, 2003).

Para contrarrestar esta situación, existen alimentos que contienen una diversidad de moléculas llamadas antioxidantes, los cuales actúan sobre los radicales libres que se encuentran en el organismo, impidiendo que se lleve a cabo la reacción en cadena, con lo que se evita que otras moléculas vitales para la célula sean dañadas (Oroian *et al.* 2015). Así, los antioxidantes eliminan especies reactivas del oxígeno (EROs), previniendo de esta forma el estrés oxidativo de las células.

Es importante señalar que el organismo cuenta con moléculas y enzimas (como la superóxido dismutasa y la catalasa) que exhiben propiedades antioxidantes y que por lo tanto regulan los niveles de EROs, pero cuando existe una sobre producción de éste, la capacidad antioxidante de dichos reguladores fisiológicos se ve superada y por ende se genera el estrés oxidativo de las células, es aquí donde la inclusión de alimentos que contengan sustancias antioxidantes juega un papel importante.

Los antioxidantes de la dieta, incluye a los compuestos polifenólicos que tienen funciones de protección contra el origen y desarrollo de varias enfermedades (la patogénesis) asociadas con el estrés oxidativo como el cáncer, enfermedades cardíacas y la aterosclerosis. (Ahn *et al.*, 2008). Varias evidencias sugieren que esto se debe a que estos fitoquímicos (como los compuestos fenólicos), actúan sobre los radicales libres generados por el estrés oxidativo de las células, eliminando dichos radicales libres, desactivando compuestos con actividad enzimática y quelando iones metálicos, sin que los mecanismos de sus efectos sinérgicos se hayan explicado por completo (Bzducha, 2006). Los fitoquímicos y los flavonoides provocan efectos beneficiosos y bajos efectos adversos, también tienen algunas propiedades biológicas que pueden funcionar como sustancias antiinflamatorias, antibacterianas, anticancerígenas y cardioprotectoras (Nabavi *et al.*, 2015). Dentro de los polifenoles naturales se encuentran los flavonoides, sustancias de bajo peso molecular que se encuentran presentes en todas las plantas y que pueden inhibir la peroxidación lipídica (la cual deteriora la membrana celular, provocando su muerte), permeabilidad capilar (el aumento de la permeabilidad capilar se produce cuando hay inflamación), agregación plaquetaria (formación de coágulos en el interior de las arterias) y la actividad de los sistemas enzimáticos como el de la lipoxigenasa (Arango *et al.*, 2010).

Por tales motivos, se ha promovido la búsqueda de moléculas con propiedades antioxidantes como potenciales agentes terapéuticos. Así, a pesar de que existen en el mercado antioxidantes sintéticos, también existe una creciente preocupación por los efectos tóxicos que estos producen; lo que refuerza la urgencia de consumir sustancias antioxidantes menos tóxicas (Jimenez *et al.*, 2005).

En este sentido, a pesar de la controversia que existe sobre el consumo de café y la salud humana, se ha aceptado que la bebida de café, además de ser una de las más consumidas en todo el mundo por sus efectos fisiológicos y sus características

sensoriales, éstas últimas debidas principalmente a los productos de las reacciones de Maillard (PRM) que se realizan durante el proceso de tostado (Nicoli *et al.*, 1997) y que influyen fuertemente en su aroma y color característico, así mismo, son una fuente de compuestos con actividad antioxidante y eliminación de radicales (Brezová *et al.*, 2009).

Cabe mencionar, que la cafeína y los ácidos clorogénicos, son los compuestos más abundantes en el café, por lo que se han estudiado, y los resultados de las investigaciones experimentales sugieren que el consumo de café puede ayudar a prevenir algunas enfermedades crónicas. Así mismo, se ha encontrado que el consumo de café descafeinado reporta similares beneficios con respecto al café regular, por lo que se sugiere que además de la cafeína, otros compuestos contribuyen a los efectos protectores de la salud (Nieber, 2017). De este modo, el consumo de la bebida de café, ha cobrado importancia en los últimos años debido a su contenido de sustancias fitoquímicas, considerándose entonces como importantes protectores para el organismo, de tal forma que incluso se han realizado estrategias terapéuticas para el manejo de algunas enfermedades (Curti *et al.*, 2014).

Sin embargo, la composición de antioxidantes de la bebida de café depende de varios factores, como por ejemplo: su origen o la variedad del café, la mezcla, el grado de tostado, la molienda y el proceso de elaboración, siendo este último, el paso decisivo en la extracción de sus compuestos, ya que se ha encontrado que las concentraciones de varios compuestos químicos, incluidos los antioxidantes, presentan diferentes tasas de extracción dependiendo de la técnica y las condiciones de elaboración que se empleen.

Existen diferentes formas de preparar la bebida de café, pero el obtenido mediante una cafetera por goteo, es la infusión de café más popular. En este método, el agua

es calentada aproximadamente entre 92-96°C y es direccionada a través de una capa de café tostado y molido que se encuentra dispuesto sobre un papel filtro (Ludwig *et al.*, 2012). El extracto gotea de la cámara de elaboración hacia un recipiente (generalmente de vidrio) ubicado sobre una plancha de calentamiento, que mantiene caliente la bebida (aproximadamente a 75°C).

Derivado de todo esto, el presente estudio pone de manifiesto la inferencia que tiene el proceso para elaborar la bebida de café y su continuo calentamiento, sobre su actividad antioxidante.

3 Objetivos

3.1 Objetivo general

Evaluar el efecto del tratamiento térmico sobre la actividad antioxidante del café (*Coffea arabica L.*) percolado y mantenido caliente a 75 ° C durante 8 h.

3.2 Objetivos particulares

- Analizar la evolución de la actividad antioxidante del café percolado empleando los ensayos de Fenoles totales, DPPH, FRAP, ATR-FTIR y Voltametría.
- Determinar el progreso del índice de empardeamiento y el contenido de cafeína del café percolado.

4 Antecedentes

4.1 Origen del café

Se piensa que el origen del café nativo (no domesticado) fue en Etiopía, aunque la primera evidencia comprobada de tomar café es del siglo XV, en el Monasterio Sufi en Yemen. Ya para el siglo XVI se había difundido al resto del Medio Oriente, el sur de la India, Persia, Turquía y el norte de África. Posteriormente llegó hasta los Balcanes, Italia y el resto de Europa, a Indonesia y subsecuentemente a América (Nieber, 2017).

Se dice que, debido a la revolución haitiana, muchas personas originarias y emigrantes europeos escaparon a Brasil, llevando consigo el café. En Colombia se comenzó a plantar por misioneros Jesuitas españoles, en 1732, y es a partir del siglo XVIII que comienza a producirse en Ecuador, Venezuela, Perú y Bolivia. Y en 1796 llega a México, en Córdoba, Veracruz y posteriormente se extiende su cultivo hacia el estado de Michoacán (1823) y Chiapas (Figueroa-Hernández *et al.*, 2015).

Existen aproximadamente 500 especies de café, pero las de mayor producción y exportación son Café arábica y Café canephora (robusta). Dichas especies presentan características diferentes, comenzando por su lugar de origen: arábica proviene de tierras altas y zonas montañosas del este de Etiopía mientras que robusta procede de las tierras bajas de África central y occidental, otras características que las hace ser desiguales son; su apariencia, calidad y sabor (Jeszka-Skowron *et al.*, 2015).

4.2 Producción y consumo del café

A nivel mundial, la producción de café ha ido en ascenso, ya que según cifras del Worldwide production of coffee, alcanzó los 158,6 millones de sacos de 60 kilogramos a partir de 2017/2018, frente a los 148,6 millones de sacos de 60 kilogramos en 2014/2015, estimándose que 2.25 mil millones de tazas de café se consumen cada día en todo el mundo (Shahbabdeh, 2019).

Por ello se considera que el café es uno de los cultivos tropicales más importantes no sólo para los 56 países productores del Tercer Mundo, sino para Estados Unidos, Europa y Japón, que consumen el 80% del café producido (Moguel & Toledo, 1996). Con base en el registro del Padrón Nacional Cafetalero (PNC), el cultivo del café en México se desarrolla en 12 estados, 404 municipios, 4 mil 572 localidades, por 510 mil 544 productores y en 675 mil 258 hectáreas (AMECAFÉ-SIAP, 2017).

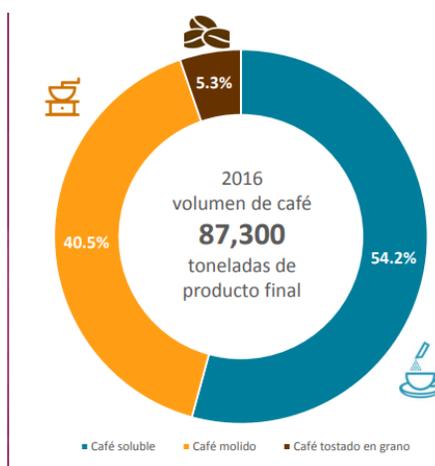
La producción de café en México, es considerado como un cultivo estratégico, ya que emplea a más de 500,000 productores, distribuidos en 14 entidades federativas y 480 municipios, formando parte el 0.66% del producto interno bruto (PIB) (SAGARPA, 2016). Las regiones cafetaleras se concentran en cuatro zonas: las vertientes del Golfo de México y del Océano Pacífico, la zona Centro-Norte y la del Soconusco en Chiapas, en el sureste mexicano, que en conjunto abarcan 398 municipios en los 12 estados productores. A continuación, se detallan dichas zonas:

- Vertiente del Golfo: comprende los estados de San Luis Potosí, Hidalgo, Puebla, México y Veracruz.
- Vertiente del Océano Pacífico: a esta pertenecen los estados de Colima, Guerrero, Jalisco, Nayarit y parte de Oaxaca.
- Región Soconusco: integrada por una gran proporción del estado de Chiapas, destacando la producción de café orgánico, el cual es altamente demandado en los mercados norteamericanos y europeos.

- Región Centro Norte de Chiapas La caficultura se practica a altitudes que van desde los 300 hasta casi los 2000 metros sobre el nivel del mar en zonas que exhiben una gran variedad de climas, suelo y tipos de vegetación. (AMECAFÉ-SIAP, 2017).

En la producción, el volumen en el mercado es de 87,300 toneladas de consumo del producto final. El consumo aparente se estima en 2,529,770 sacos de café verde. Esta cifra es un punto de referencia para validar el tamaño del mercado de consumo de café total en México (Euromonitor, 2017).

Fig. 1 Tamaño de mercado de consumo por categoría de café (2016)



Fuente: Euromonitor

En la actualidad, en México se consume 1.3 Kg de café per cápita al año, estimándose que en el 2016 el consumo nacional fue de 809.84 mil toneladas y se estima que para el 2030 pase a 943.32 mil toneladas. Se predice que este fenómeno de crecimiento también se presentará en la producción, pasando de 824.08 a 4,709.35 mil toneladas, para los mismos periodos. Es importante señalar que en la actualidad los requerimientos nacionales de café se satisfacen al 100% (SAGARPA, 2016), como puede observarse en la siguiente figura.

Fig. 2 Satisfacción de los requerimientos nacionales



Fuente: SAGARPA https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256426/B_sico-Caf_.pdf

Recientemente, la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), informó que la producción de café aumentó del periodo 2015-2016 al 2017-2018, pasando de 2.2 a 3 millones de sacos, respectivamente, y se pronostica para el 2019 se produzcan 4.5 millones de sacos de café. (UNIVERSAL, 2018).

El consumo fuera de casa ha crecido significativamente con el desarrollo de una cultura de café que impulsaron las cafeterías, por lo que dicho consumo ha crecido rápidamente, impulsando el crecimiento del café molido en particular. Los menús tienen cada vez más opciones de cafés, aun en restaurantes enfocados en comida. Se destaca la fuerte expansión de las cafeterías y del café preparado vendido en tiendas de conveniencia, tendencias que han impulsado el crecimiento y la evolución del consumo de café. (Euromonitor, 2017).

Fig. 3 Volumen de café por sector en México en 2016 y su pronóstico (toneladas)



Fuente: Euromonitor Internacional

Su consumo está creciendo, particularmente el del café molido, sea para el hogar o debido a la expansión de las cafeterías y tiendas con máquinas cafeteras de despachado rápido.

4.3 Generalidades de la planta de café

Cafeto o café, es el nombre que se le da a un género de árboles pertenecientes a la familia de las rubiáceas, a sus semillas y a la bebida que se prepara con ellas. La planta cafeto, es un arbusto pequeño que mide entre 4 y 6 m de altura, con hojas verdes y ovaladas que terminan en punta y que crecen opuestas y alternas en el tallo ortotrópico y en ramas plagiotrópicas. Después de 6 o 7 meses a partir de que aparecen sus flores (con corola blanca y formada por cinco pétalos unidos en su base), se desarrolla el fruto, el cual es una drupa de superficie lisa y brillante, de pulpa delgada que cambia del color verde al rojo, por lo que se le conoce con el nombre de cereza, uva o capulín, cubierto por una cascarilla llamada pergamino. Las semillas son blongas, planas convexas y representan del 35% al 38% del fruto. (SAGARPA, 2016) (Figuroa-Hernández *et al.*, 2015).

Fig. 4: Imagen de café cereza y granos de café tostado



Fuente:123RF https://es.123rf.com/photo_79300217_caf%C3%A9-planta-de-caf%C3%A9-real-con-frijoles-rojos-sobre-fondo-de-granos-de-caf%C3%A9-tostado.html

4.4 Dos especies importantes de café: Arábica y Robusta

Como ya se mencionó, el café arábico de las tierras altas de Etiopia, es un arbusto que crece de 2-2.5 m de altura, sus hojas son pequeñas y ovaladas midiendo entre 12 y 15 cm de largo y alrededor de 6 cm de ancho. Sus flores son blancas y sus frutos ovales que pueden madurar entre 7 y 9 meses, contenido hasta dos semillas cada uno. Las variedades más conocidas son: Típica y Bourbon.

La variedad Robusta, es nativa de los bosques ecuatoriales de África. También es un arbusto pequeño, y a diferencia de la variedad arábica; sus hojas son más largas y corrugadas, sus frutos son más redondeados y tardan hasta 11 meses en madurar, sus semillas tienen forma alargada y son más pequeñas (Figueroa-Hernández *et al.*, 2015).

Fig. 5: Granos de café Robusta y Arábica



Fuente: <https://www.excelenciasgourmet.com/es/opinion/robusta-vs-arabica-un-producto-dos-sabores>

4.5 Proceso productivo del café

Para el procesamiento del café, es necesario recoger solo los frutos maduros, los cuales son canalizados hacia unas tolvas que pueden estar fabricadas con cemento, madera o recubiertas con aluminio.

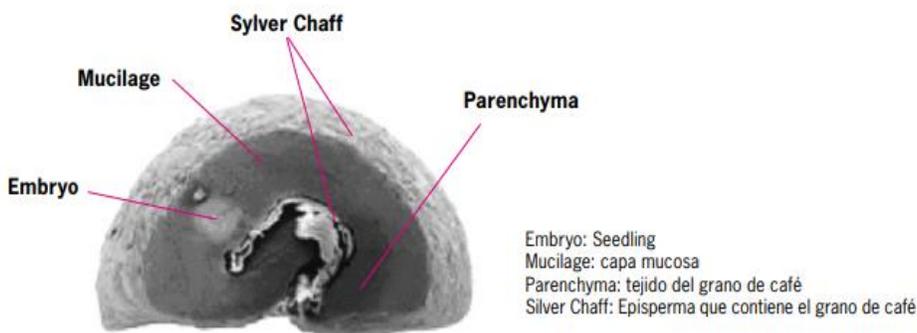
El despulpado del fruto es el paso siguiente. Éste debe realizarse en seco. Por su parte, la remoción del mucílago tiene como finalidad eliminar el mucílago que recubre el pergamino haciendo que éste se descomponga y una vez fermentado se disuelva en agua, lo que facilitará su remoción con agua. Posteriormente, se procede al secado, el cual se puede realizar de forma natural (secado al sol) o artificialmente (con secadoras de carbón, gasolina, gas, etc.,) (Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, 2010)

El proceso de tostado se realiza a una temperatura de 180°C, durante este paso el vapor del agua y el CO₂ generan gran presión dentro del grano, provocando que las paredes celulares reduzcan su grosor, hasta llegar al punto en que se formen finas

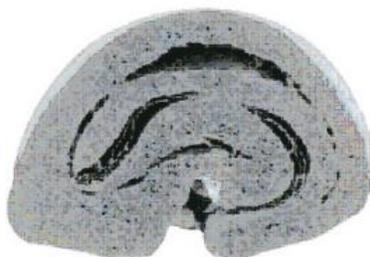
grietas en la superficie plana del grano. Cuando la temperatura supera los 200°C, el CO₂ escapa rompiendo la estructura celular del grano. Hay pérdida de masa en forma de agua y de algunos otros compuestos (CO₂, CO, ácidos volátiles, etc.), por lo tanto, pérdida de peso del grano, reduciéndose entre un 12 y 23%.

Fig. 6: Cortes transversales del grano de café antes y después del proceso de tostado

Corte transversal de un grano de café antes del tostado



Corte transversal de un grano de café después del tostado



Fuente: https://www.forumdelcafe.com/sites/default/files/biblioteca/f-41_fisica_quimica_tueste.pdf

Como el volumen del grano de café aumenta y existe pérdida de masa (principalmente debida a el agua que se evapora), disminuye la densidad del café tras el proceso de tostado. Cabe resaltar que además de estos cambios físicos que ocurren en el grano del café, también existen cambios químicos, generándose cerca de 1,000 compuestos, muchos de los cuales son aromáticos, así mismo, ocurre el

obscuramiento del grano debido a las reacciones de Maillard (formación de melanoidinas) (Rodríguez, 2015).

4.6 Productos de las reacciones de Maillard

La reacción de Maillard corresponde a una reacción de pardeamiento no enzimático, responsable de formar compuestos involucrados en el sabor, color y aroma en los alimentos, cuando son procesados. Dicha reacción se encuentra influenciada por varios factores: temperatura, pH, tipo de reactantes y su concentración, así como la actividad acuosa. (Miranda *et al.*, 2007).

Es importante resaltar que algunos compuestos formados en la reacción de Maillard, presentan actividad antioxidante, lo cual ha sido confirmada para algunos productos alimenticios, como el café, por algunos investigadores como Miranda (2007) Yanagimoto (2002), quien reportó que varios compuestos heterocíclicos que contienen nitrógeno/o azufre, (formados por la reacción de Maillard), exhibieron actividad antioxidante en el café tostado.

Los productos de la reacción de Maillard (PRM), son muy complejos y corresponden a una mezcla de compuestos con diferentes pesos moleculares que incluyen aldehídos, cetonas dicarbonilos, acrilos amidas y aminos heterocíclicos, que contribuyen al sabor. Así mismo, en los pasos más avanzados de la reacción se forman melanoidinas y productos finales de glicación avanzada. (Wang *et al.*, 2011).

Las melanoidinas son macromoléculas poliméricas que tienen color y que son el resultado de las interacciones que existen entre carbohidratos (típicamente azúcares reductores) y compuestos con un grupo amino libre, como los que se

encuentran en los aminoácidos. El interés por estudiarlas ha proliferado en los últimos años, debido a sus propiedades quelantes, antimicrobianas, antihipertensivas, antimutagénicas y antiradicales. Y a pesar de que su estructura es químicamente muy diversa, existen estudios que informan que las que se encuentran en el café, tienen cargas negativas debidas principalmente a la presencia de los ácidos clorogénicos (Echavarría *et al.*, 2012).

4.7 La obesidad y el estrés oxidativo celular

El estrés oxidativo es consecuencia del desequilibrio que existe entre la producción de radicales y las defensas antioxidantes propias del organismo (Karabudak, *et al.*, 2015). En este sentido, cabe mencionar que el organismo genera mecanismos inmunes para hacer frente a los gérmenes que pudieran invadirlo, es así que el complejo enzimático NADPH oxidasa produce EROs, con la finalidad de destruir dichos microorganismos (Arango *et al.*, 2010).

Las EROs, se caracterizan por ser moléculas con alta reactividad. En este grupo se encuentran principalmente, el superóxido (O_2^-), el hidroperóxido (H_2O_2), el radical hidroxilo (OH^\cdot), el óxido nítrico (NO) y el peroxinitrilo ($ONOO^-$), entre otras.

Como ya se mencionó, el organismo requiere de la producción de estos radicales libres, pero desgraciadamente en ocasiones, dicho equilibrio se rompe ocasionando un exceso en la producción de los radicales libres, provocando daños en el organismo, en diferentes niveles (DNA, proteínas, lípidos, etc.) y a pesar de que el propio organismo está provisto de una serie de sistemas de defensa que emplea en estos casos (como la actividad de la superóxido dismutasa: SOD), en ocasiones esto no es suficiente. (Valdecantos *et al.*, 2009). Es aquí donde los antioxidantes juegan un papel importante en el organismo, ya que actúan como “carroñeros”, con un papel contrario a las EROs (Puntel *et al.*, 2007).

Existen estudios donde se sugiere que la obesidad es acompañada de un estrés oxidante crónico en las células y que a su vez éste vincula a dicha enfermedad con otros trastornos, como por ejemplo la resistencia a la insulina y las patologías cardiovasculares. Evidencia de esto, es la mostrada en el estudio llevado a cabo en 3 000 individuos sanos en la provincia de Attica (Grecia), donde se observó una correlación negativa entre el riesgo de padecer obesidad y lo arraigado que tienen los involucrados, en consumir su dieta mediterránea, con elevada concentración de antioxidantes (Valdecantos *et al.*, 2009).

4.8 Compuestos presentes en el café y los beneficios de tomarlo

Hasta finales de la década de los años 90's, se hablaba más de los riesgos de tomar café, que de los beneficios de hacerlo (Kamiyama *et al.*, 2015), incluso hace algún tiempo, se decía que tomar grandes cantidades de café podría provocar enfermedades hepáticas, sin embargo, derivado de los estudios que se le han realizado donde se reporta la descripción de aproximadamente 1,000 fitoquímicos y el análisis de los efectos que provoca su consumo en el organismo, fue catalogado como alimento funcional, ya que se menciona que beber café en cantidades adecuadas tendrá un impacto tanto en el sistema cardiovascular como en el metabolismo de carbohidratos y lípidos. (Jeszka-Skowron *et al.*, 2015)

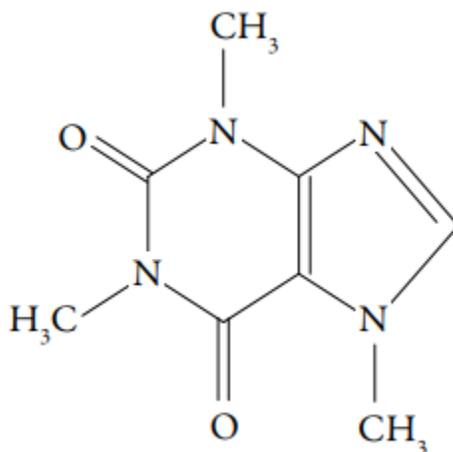
Al contrario de lo que se creía anteriormente, las diversas formas de enfermedad cardiovascular, arritmia o insuficiencia cardíaca parecen no verse afectadas por la ingesta de café. (Cano-Marquina, 2013).

Si bien el café incluye una mezcla compleja de compuestos, su contenido depende de la variedad, su tostado y tratamiento que se le dé, ya que cuando los granos de café verde son tostados a altas temperaturas, sus aminoácidos y carbohidratos

reaccionan produciendo los productos de reacción de Maillard (PRM), sin embargo, la cafeína es el compuesto más conocido e investigado del café (Nieber, 2017).

La cafeína (1,3,7-trimetilxantina) corresponde al grupo de las xantinas, y es el principal alcaloide presente en los granos de café verde y tostado. La importancia de este compuesto, radica en que contribuye al sabor amargo de la infusión de café y al ser consumido, aumenta de manera ligera la secreción de noradrenalina y a la vez estimula la actividad neuronal en varias regiones del encéfalo por lo que se considera que tiene efectos estimulantes sobre el sistema nervioso central (Sanabria *et al.*, 2017). En la siguiente figura (Fig. 7), se puede observar su estructura.

Fig. 7 Estructura de la molécula de cafeína



Fuente: Sanabria, 2017

La concentración de dicho alcaloide en los granos del café, depende principalmente de la especie que se trate, por ejemplo; los granos de café verde de *Coffea arabica* contienen entre 0.7 y 1.6%, mientras que en los de *Coffea canephora*, oscila entre el 1.5 y 4.0%. Cabe señalar que en las preparaciones de la bebida de café se han

identificado otras dos metilxantinas: teobromina (3,7-dimetilxantina) y la teofilina (1,3-dimetilxantina), sin embargo, posiblemente debido a su baja concentración, no se han estudiado a fondo. (Jeszka-Skowron *et al.*, 2015).

Así mismo, los granos de café verde contienen otras sustancias, consideradas antioxidantes, tales como: ácidos clorogénicos, ácidos fenólicos, polifenoles y alcaloides; este contenido depende de su origen y especie del que se trate. Las condiciones del tostado del grano influyen sobre dichos antioxidantes debido a que éstos se pueden descomponer parcialmente o se pueden unir formando un polímero, así mismo, este proceso de tostado provoca la generación de productos de reacción de Maillard (melanoidinas), que tienen una importante actividad antioxidante (Brezová *et al.*, 2009). Esto ha sido comprobado por Nicoli (1997), cuando determinaron que la capacidad antioxidante de los granos de café tostado, superaron a la de los granos de café verde, esto puede ser debido a que durante el proceso de tostado se desarrollaron reacciones de Maillard conduciendo a la formación de reductonas con estructura de enediol, que pueden retardar la tasa de oxidación de las grasas. Los productos de las reacciones de Maillard (PRM) también son eficientes como agentes quelantes, reduciendo el hidroperóxido a productos no radicales.

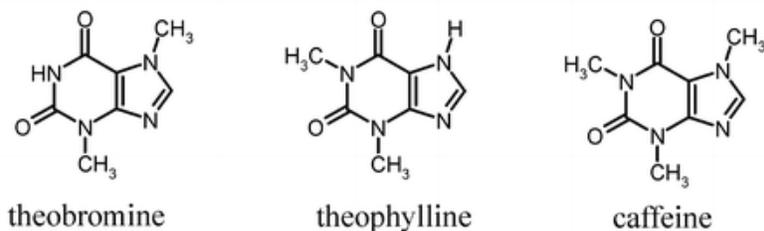
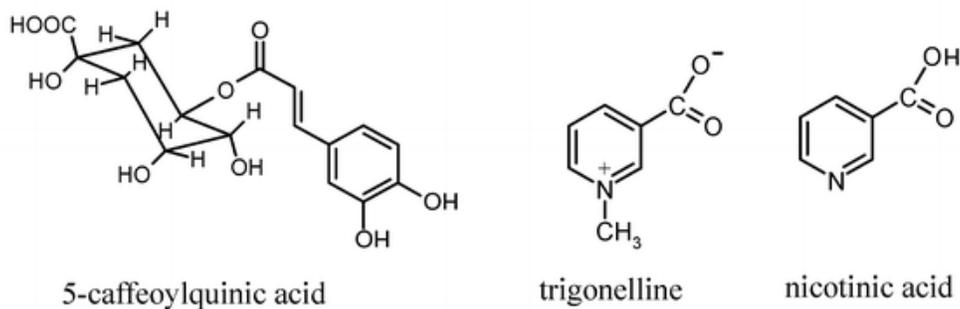
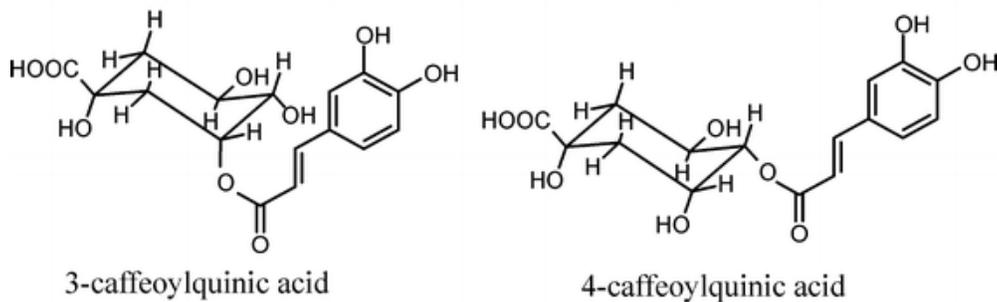
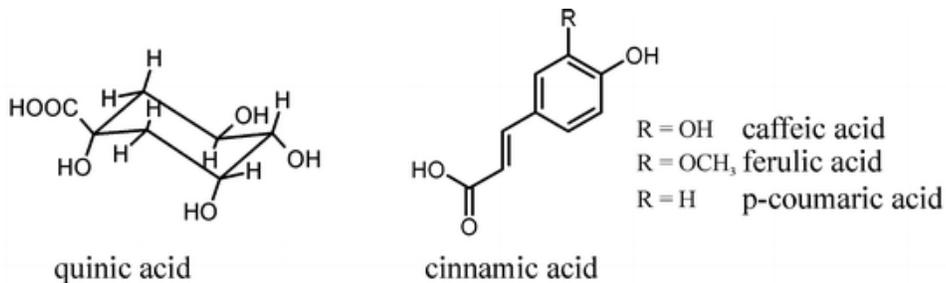
Los (PRM) son generados durante el proceso del tostado, cuando los granos verdes de café son calentados a 200-250°C, durante aproximadamente 0.75 a 25min, dependiendo de las características deseadas. Durante dicho proceso, ocurren cambios físicos y químicos en el grano, que incluyen la degradación térmica de antioxidantes fenólicos y la generación de compuestos marrones con sabor, los referidos PRM. Un punto importante, es que los PRM provenientes de extractos de café, son los antioxidantes predominantes en el café tostado (Liu *et al.*, 2011).

Existen informes donde se menciona la existencia de más de 300 compuestos heterocíclicos como; el pirrol, oxazoles, furanos, tiazoles, tiofenos, imidazoles y pirazinas, en la bebida de café, todos ellos son productos de la reacción de Maillard, y responsables de producir sabores a la bebida así como propiedades con ciertas actividades antioxidantes (Yanagimoto *et al.*, 2002).

Como ya se mencionó, el café contiene grandes concentraciones de polifenoles como los ácidos clorogénicos (Fig. 8), siendo el principal, el ácido cafeoilquínico (ACQ) el cual presenta tres isómeros: 3-, 4- y 5-ACQ de los cuales, éste último es el más abundante, y aunque en menores proporciones se encuentran los ácidos feruloilquínico (AFQ), con tres isómeros: 3-, 4- y 5-AFQ, el ácido dicafeoilquínico (diACQ), también con tres isómeros: 3,4-diACQ; 3,5-diACQ; 4,5-diACQ, ácidos p-cumaroilquínicos (pACoQ) con 3 isómeros (3-, 4- y 5- pACoQ) y los diésteres mixtos de ácidos cafeoilferuloilquínicos (ACFQ).

Los ácidos clorogénicos, pueden transformarse en ácidos fenólicos (cafeico, ferúlico, y restos isoferulicos) y posteriormente en otros metabolitos (ácidos dihidrocafeico y el ácido dihidroferulico). Existen evidencias que ponen de manifiesto que los ácidos clorogénicos actúan como antioxidantes y mostraron actividades hepatoprotectoras, hipoglucemiantes y antivirales. (Sousa *et al.*, 2018) (Jeszka-Skowron *et al.*, 2015)

Fig. 8 Estructura químicas de ácidos clorogénicos y sus derivados, presentes en el café



Fuente: (Jeszka-Skowron *et al.*, 2015)

Cabe puntualizar que estos ácidos clorogénicos son formados por la esterificación de los ácidos trans-cinámico y quínico. Si bien es cierto que durante el proceso de tostado los ácidos clorogénicos disminuyen su concentración, la bebida de café puede representar hasta 0.5-1.0 g/día, en aquellas personas que gustan de tomarlo.

Y también, éste ácido y la composición de sus isómeros, contribuyen en la astringencia, aroma, formación de pigmentos y sabor de la bebida, debidas a las reacciones de Maillar que se llevan a cabo durante el tostado del grano (Liang *et al.*, 2016).

En una taza de café se pueden identificar otros metabolitos como: lactonas, diterpenos, incluidos cafestol y kahweol, niacina y la trigonelina precursor de la vitamina B3 (Nieber, 2017). Este alcaloide (trigonelina) se encuentra en el grano de café verde alcanzando concentraciones de 0.4-1.8% p/p, esta variación depende principalmente de la especie de café, el estado de maduración del grano y del método de procesamiento aplicado después de su cosecha. Su importancia radica en que es un precursor importante de los compuestos aromatizados que se forman durante tostado del café, correlacionándose con la calidad de una taza de café, ya que tiene una contribución directa en la amargura percibida. Es importante mencionar que, durante el tostado del grano de café, la concentración de la trigonelina disminuye (aproximadamente un 50%) en comparación con el grano verde, pero así mismo se forman otros compuestos como pirazinas, alquilpiridinas, furanos y pirrol, los cuales también se relacionan con las características sensoriales de la bebida de café (Sousa *et al.*, 2018).

Además de los anteriores compuestos, el cafestol y kahweol, se encuentran presentes en el aceite de café, y estos compuestos también han demostrado poseer actividad antioxidante.

Hay poca evidencia de que el consumo moderado de café (3–4 tazas/día proporcionando 300–400 mg/día de cafeína) en adultos, tenga algún riesgo para la salud, y algunas evidencias muestran sus beneficios. (Nieber, 2017). Por ejemplo,

se tiene conocimiento de algunos estudios relacionados con las propiedades antiinflamatorias que provoca el consumo del café. Si bien la inflamación está relacionada con una lesión en el tejido, se sabe que si ésta es prolongada, se puede contribuir a padecer enfermedades de origen infeccioso y/o enfermedades como la artritis reumatoide, la gota, enfermedad pulmonar obstructivas crónica, enfisema, diabetes tipo 1 y 2, cáncer y varios tipos de enfermedades neurodegenerativas, así mismo, la inflamación está estrechamente relacionada con el estrés oxidativo de las células derivado de que muchas células producen especies reactivas de oxígeno y nitrógeno durante la inflamación, cuando el complejo enzimático de la NADPH oxidasa, es activada (como respuesta inmune) generando su producto principal, el superóxido (O_2^-) y otras especies reactivas del oxígeno (ERO) (Andersen *et al.*, 2006), encargadas de destruir los gérmenes mediante la fagocitosis, durante el proceso de estallido respiratorio de las células fagocíticas (Arango *et al.*, 2010). En este sentido, el consumo de antioxidantes ha demostrado que previenen la lesión del tejido in vivo durante el proceso inflamatorio, por lo que el ingerir café se ha relacionado con un menor riesgo de muerte atribuido a enfermedades inflamatorias y cardiovasculares. Estudios experimentales realizados en ratones, han demostrado que el ácido cafeico inhibe eficientemente la activación del factor de transcripción del factor nuclear B, responsable de la respuesta inflamatoria. Así mismo, estudios epidemiológicos han determinado que el café se asocia con la reducción de biomarcadores del estrés oxidativo (Andersen *et al.*, 2006).

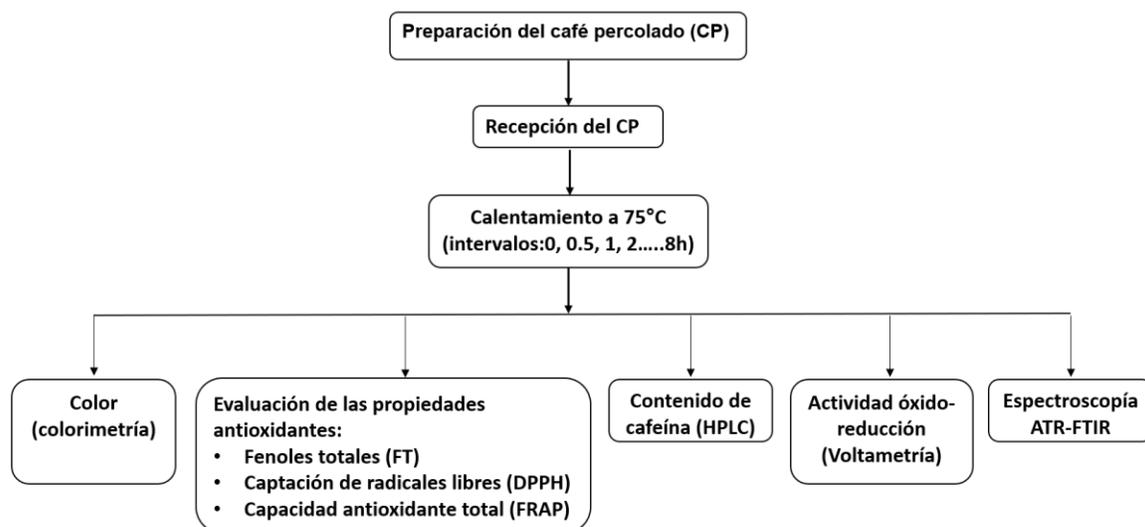
Así mismo, la ingesta de café se encuentra relacionada con una menor incidencia de diabetes mellitus tipo 2, obesidad, enfermedad cardiovascular y enfermedad hepática y brinda protección ante una serie de enfermedades degenerativas, como; el Parkinson y trastornos neurológicos, además de ciertos tipos de cáncer, aunque su potencialidad como factor de riesgo de provocar osteoporosis, se encuentra en debate (Karabudak *et al.*, 2015) (Cano-Marquina, 2013).

Parece ser entonces que el consumo de café puede reducir la mortalidad (Cano-Marquina, 2013).

5 Materiales y Métodos

En la fig. 9, se muestra el diagrama del diseño experimental que se siguió en la presente investigación:

Fig. 9 Diagrama del desarrollo experimental



Fuente: Elaboración propia

5.1 Materiales

Para realizar el estudio se emplearon granos de café colombianos de la variedad Arábica, molidos y tostados, envasados al vacío, los cuales fueron adquiridos en Wal-Mart (marca de miembro, Wal; lote de producción 6217; fecha de vencimiento 2018; Ciudad de México, México). Posterior a su compra, fueron almacenados a temperatura ambiente hasta que se requirieron para la preparación del café percolado (CP).

Reactivos: Folin-Ciocalteu, 2,2 difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), 2,4,6-tris (2-piridil) -s-triazina (TPTZ), 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (trolox) y estándar de referencia de cafeína (peso molecular 194.19) de Sigma Aldrich (Toluca, Estado de México, México).

Se adquirieron acetonitrilo, cloruro férrico, solución tampón de acetato (pH 3,6) y etanol de J.T. Baker (Naucalpan, Estado de México, México). Todos los reactivos utilizados fueron grado reactivo ACS.

Cabe señalar, que toda el agua utilizada en los experimentos fue desionizada.

5.2 Preparación del café percolado

Con la finalidad de evitar el daño oxidativo, la bolsa que contenía el café, se abrió inmediatamente antes de la preparación del CP.

Para elaborar el CP, se pesaron 24 g de café tostado y molido y se dispusieron en un filtro de cesta de papel Melita. Se añadieron 400 ml de agua en una máquina con filtro (cafetera Black y Dekker). El proceso de extracción duró aproximadamente 7 minutos a una temperatura de 90 °C. La infusión se recibió en frascos de vidrio (10 en total), los cuales se mantuvieron sobre la parrilla de calentamiento a una temperatura de 75.0 ± 3.3 ° C y fueron cubiertos con bolsas de plástico resistente a altas temperaturas con la finalidad de evitar la evaporación del agua.

Fig. 10 Muestras de café percolado



Fuente: Elaboración propia

De esta manera, se extrajo una muestra de CP cada hora desde un matraz de vidrio diferente, con el fin de minimizar las diferentes condiciones de calentamiento debido al volumen disminuido de dicho café.

Una vez extraídas, las muestras se enfriaron en un baño de hielo hasta alcanzar una temperatura de $3 \pm 0,2$ ° C para su posterior análisis.

Se midió el pH de las muestras del CP con un pHmetro (Hanna Instruments, modelo HI 98240, Smithfield, RI, EE. UU.) a una temperatura de 25 ° C.

5.3 Ensayo colorimétrico

Se siguió la evolución del color de las muestras de CP mediante el uso de un colorímetro Minolta (CR-300, Konica Minolta, Osaka, Japón). El equipo se calibró

con un azulejo blanco estándar ($L= 97.43$, $a= 0.01$ y $b=1.64$) y se ajustó para el iluminante D65, y un ángulo de observación de 2° para todas las muestras.

Fig. 11 Colorímetro



Se tomaron 10 ml de cada una de las muestras de CP y se colocaron en cajas de Petri de 5 cm de diámetro. Su color se evaluó a temperatura ambiente.

Los valores de Hunter L , a , y b corresponden a luminosidad, el índice de verdor ($-a$) o enrojecimiento ($+a$), y azulado ($-b$) o amarillez ($+b$). También se determinó la diferencia de color total (ΔE) de acuerdo con la siguiente ecuación (Ec.1):

$$\Delta E = \sqrt{(L_0 - L)^2 + (a_0 - a)^2 + (b_0 - b)^2} . \quad (1)$$

El subíndice '0' indica los valores iniciales de los parámetros L , a , y b .

Adicionalmente, el índice de pardeamiento de las muestras CP fue monitoreado y registrado usando un espectrofotómetro (Spectronics Genesys 2 UV/Vis, Spectronic Unicam, Rochester, NY, EE. UU.) empleando una longitud de onda a 420 nm de acuerdo con los experimentos previamente realizados por (Liu *et al.*, 2011) y (Lee *et al.*, 2016). Calibrando el equipo con agua desionizada.

Las muestras de CP fueron preparadas tomando alícuotas de 5ml y llevándolas a un volumen final de 100ml, con agua desionizada.

5.4 Ensayo antioxidante DPPH

Se midió la actividad de captación de radicales libres empleando el ensayo con 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH) de acuerdo con (Hemalatha *et al.*, 2016). Se mezcló una alícuota de 250 μL de cada muestra de CP con 250 μL de agua y 3.5 ml de solución de DPPH diluido previamente en etanol (23 mg de DPPH/L). La mezcla se agitó en un vortex y se dejó reposar en la obscuridad durante 30 minutos a temperatura ambiente.

La absorbancia se determinó a 517 nm (Spectronics Genesys 2 UV / Vis, Spectronic Unicam, Rochester, NY, EE. UU.) Hasta que la cinética de la reacción alcanzó una meseta.

Fig. 12 Espectrofotómetro, Spectronics Genesys 2



Fuente: Elaboración propia

La actividad antioxidante se expresó como el porcentaje de inhibición ($\%I$) del radical libre DPPH, calculado con la siguiente ecuación:

$$\%I = \left(\frac{Abs_b - Abs_s}{Abs_b} \right) \times 100$$

Donde Abs_b y Abs_s son la absorbancia de la reacción de control (sin la muestra) y de la muestra, respectivamente.

Se obtuvo una curva estándar con concentraciones conocidas de Trolox ($0.4-18 \mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ etanol) frente a los valores de absorbancia usando DPPH como se describió anteriormente.

Fig. 13 Prueba de DPPH aplicada a las diferentes muestras de CP



Fuente: Elaboración propia

5.5 Contenido de fenoles totales

El contenido fenólico total se determinó con el reactivo Folin-Ciocalteu de acuerdo con (Wu *et al.*, 2013). En un tubo de ensaye se colocaron $200 \mu\text{L}$ de la muestra de CP y se mezclaron con $250 \mu\text{L}$ de reactivo de Folin-Ciocalteu (1 N). En un segundo paso, se agregaron $1250 \mu\text{L}$ de una solución de carbonato de sodio al 20% y 2.3 mL de agua desionizada. Dicha mezcla se agitó en un vortex y se dejó incubar en

obscuridad durante 30 minutos a temperatura ambiente (aproximadamente 20° C). El cambio en la absorbancia se midió a 760 nm.

Para calcular la concentración de fenoles totales se empleó una curva estándar usando Trolox como referencia. Los resultados se expresaron en mg de equivalente trolox.mL⁻¹.

Fig. 14 Fenoles totales mediante Folin-Ciocalteu: preparación de la curva estándar usando Trolox como referencia



Fuente: Elaboración propia

5.6 Capacidad antioxidante total

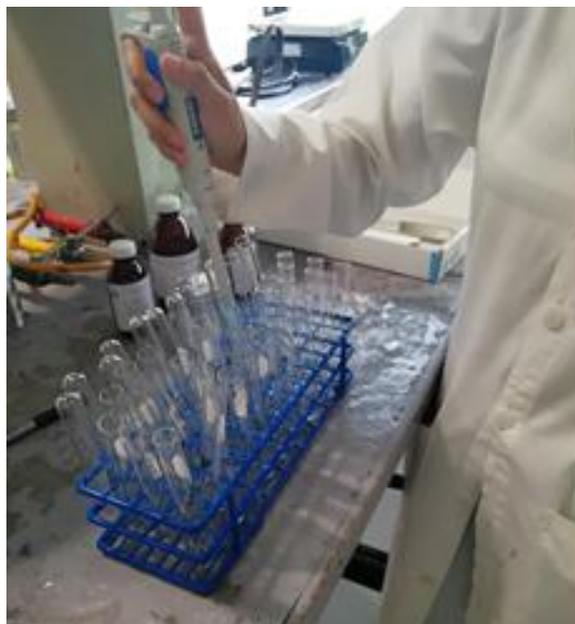
La capacidad antioxidante total (CAT), se determinó siguiendo el ensayo descrito por (Guo *et al.*, 2003). El método se basa en la reducción de un complejo férrico-tripiridiltriazina en presencia de antioxidantes. El reactivo contenía 2.5 ml de una solución 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) preparada bajo una concentración de 10mmol/L, mezclada con una solución de 40mmol/L de HCL más 25ml de una solución buffer preparada con acetato (concentración 0.3 mol/L) y 5 ml de FeCl₃

(con concentración 20mmol/L). Se calentó a 37°C. Cabe señalar que el reactivo se preparó recientemente para poderse utilizar de manera inmediata.

Las muestras fueron preparadas mezclando 1800 μL de la solución FRAP con 100 μL de la muestra y se añadió agua para alcanzar un volumen final de 4 mL. Dichas muestras se dejaron incubar durante 10 minutos a 37°C. El resultado de la reacción fue medido en un espectrofotómetro empleando una longitud de onda de 595 nm.

Se realizó una curva estándar con Trolox diluido en etanol, en un intervalo de concentraciones que van desde los 0.85 $\mu\text{g}.\mu\text{L}^{-1}$ hasta los 55 $\mu\text{g}.\mu\text{L}^{-1}$, vs la absorbancia. Los resultados finales se expresaron en $\text{mg}.\text{mL}^{-1}$ de equivalente trolox (ET).

Fig. 15 Capacidad antioxidante total mediante el ensayo con FRAP: preparación de la curva estándar usando Trolox como referencia



Fuente: Elaboración propia

5.7 Contenido de cafeína

El contenido de cafeína de las muestras de CP, fue determinado empleando la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) de acuerdo con Naegele (2013), utilizando el equipo Agilent HP 1100 (ver Fig. 16), con muestreador automático (modelo 1200 mca, Agilent Technologies, Alemania).

Fig. 16 Cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC)



Fuente: Elaboración propia

El análisis se realizó utilizando una columna inversa de Nucleosil 100-5 (Nautilus, Macherey, Inglaterra) a una temperatura de 25°C. Para el análisis de la composición de las diferentes muestras, se empleó una fase móvil que consistió en una mezcla de agua y acetonitrilo en una proporción 75:25 respectivamente. La velocidad del flujo fue ajustada a 0.8ml /min, con 76 bares de presión, 5 minutos, y la disposición de los diodos se encontraba en una longitud de onda de 273nm.

La curva de calibración se realizó con un estándar de cafeína (1mg.mL⁻¹). Se inyectaron 20 µL de las muestras, determinando la concentración de cafeína mediante el cálculo del área de los picos de las curvas e interpolando en la curva estándar. Todos los experimentos se realizaron a 25°C.

5.8 Voltametría

La voltametría es una técnica electroquímica en la que la información cualitativa y cuantitativa de una especie química se obtiene mediante el registro de las curvas de potencial de corriente realizadas durante su electrólisis en una celda electroquímica que consta de al menos dos electrodos; uno de los cuales es un micro electrodo (el electrodo de trabajo) y el otro un electrodo de superficie relativamente grande (generalmente un electrodo de referencia). El potencial se aplica entre los dos electrodos de exploración, es decir, al variarlo a una velocidad constante en función del tiempo. El potencial y la corriente resultante se registran simultáneamente. La curva de la corriente vs. el potencial obtenido se llama voltamograma (Alexio, 2003).

De manera particular, la voltametría cíclica es una técnica que se emplea especialmente en estudios de procesos redox de especies moleculares, mecanismos de reacción, formación de compuestos intermediarios durante una reacción, entre otros, por lo que también es conocida como "espectroscopía electroquímica" debido a que los voltamogramas que se obtienen son característicos y dan información inequívoca de las propiedades electroquímicas individuales de los sistemas redox. Actualmente en el laboratorio de voltametría cíclica se efectúan estudios del comportamiento redox de compuestos organometálicos (Flores *et al.*, 1996) (Elgrishi *et al.*, 2018).

Para realizar esta técnica, las muestras de CP se colocaron en un Potenciostato/Galvanostato PARSTAT (Princeton Applied Research, Oak Ridge, TN, USA) modelo 2273 (fig. 17), se utilizó una celda con volumen =50mL equipada con un sistema Faraday. La configuración de los arreglos consistió en una celda típica (volumen =50mL) dispuesta con tres electrodos: (1) electrodo de referencia de sulfato saturado ($\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{SO}_4 / \text{K}_2\text{SO}_4$), SSE, ($E=0.645\text{V}/\text{SHE}$, XR200

Radiómetros), (2) un contraelectrodo de alambre de platino, y (3) una placa de platino como electrodo de trabajo.

Fig. 17 Potenciostato/Galvanostato PARSTAT



Fuente: Elaboración propia

Antes de realizar cada uno de las determinaciones, la superficie del electrodo de trabajo fue pulida usando polvo de alúmina (óxido de aluminio: Al_2O_3) de la marca Buehler (con tamaño de grano final de $\leq 0.05 \mu\text{m}$), hasta lograr un acabado de espejo. Posteriormente, se enjuagó el electrodo con agua desionizada y fue colocado en un baño ultrasónico por espacio de 5min. Es importante mencionar que la celda de reacción está equipada con un control de temperatura para mantener el sistema a 20°C . Para realizar los voltamogramas se empleó un potencial de exploración a $100 \text{ mV} / \text{s}$, y de -1.0 a 1.5 V , en la dirección anódica.

5.9 Espectroscopía ATR-FTIR

La calidad de un café puede ser determinada por la espectroscopía FTIR ya que mediante la estimación del contenido de cafeína, se puede poner en evidencia la

diferencia entre los granos de café defectuoso y los que no lo son, la variedad de la que proceden, por ejemplo, Arábica o Robusta, así como la capacidad antioxidante, sin embargo, el desarrollo de algunos aditamentos, como las celdas atenuadas de reflectancia total (ATR), proveen un manejo más simple y a su vez permite que las muestras se examinen en su estado original (Liang *et al.*, 2016).

Para realizar esta técnica de espectroscopía ATR-FTIR, se hizo necesario secar las muestras de CP a 37°C en un horno de convección (RIOSSA, HCF-41D, Ciudad de México, México). Los espectros infrarrojos se obtuvieron mediante transformada de Fourier, empleando un espectrofotómetro Perkin Elmer (Spectrum 100 Perkin Elmer, Waltham, MA, USA) equipado con un accesorio de muestreo ATR universal de cristal de diamante, en el rango de 4000-400 cm^{-1} (Fig.18)

Fig. 18 Espectrofotómetro Pekin Elmer



Fuente: elaboración propia

5.10 Análisis estadístico

Los experimentos fueron realizados por triplicado y los datos obtenidos se reportaron como medias \pm D.E. Los resultados de los ensayos realizados al CP,

fueron sometidos al Análisis de Varianza (ANOVA) empleando el sistema de análisis estadístico Statgraphics 7 (Estadística Graphics Corp. Manugistics Inc., Cambridge, MA). Diferencias significativas entre medias ($p \leq 0.05$) fueron detectadas usando la prueba de Tukey.

6 Resultados y Discusiones

Los valores obtenidos en el análisis colorimétrico aplicado a las diferentes muestras del CP se pueden observar en la Tabla 1, donde se pone en evidencia que tanto los parámetros de Hunter (L , a y b) así como el cambio de color total (ΔE), mostraron una afectación debida al tiempo de calentamiento de las muestras. Así, puede verificarse que, dentro de la primera hora, los valores de L , a y b , no mostraron

variaciones significativas, pero al continuar el calentamiento (hasta llegar a las 8hrs), todos estos valores mostraron una significativa disminución, lo que provocó que el ΔE aumentara. Lo anterior, recae en que la exposición de las muestras al calentamiento prolongado, provocó cambios en el color del CP. Cabe hacer notar que, en las últimas horas del calentamiento experimentado, esto se hizo aún más evidente y dichos cambios pueden describirse mejor mediante el índice de obscurecimiento, el cual mostró un aumento continuo a medida que el tiempo de calentamiento se prolongaba. Todos estos resultados sugieren que el obscurecimiento del CP, podría ser debido a las reacciones de Maillard (RM), donde el grupo carbonilo electrofílico del azúcar es atacado nucleofílicamente por el grupo amino libre de un aminoácido, que posteriormente originan una mezcla compleja de diversos compuestos con diferentes pesos moleculares (productos de las reacciones de Maillard: PRM), como aldehídos, cetonas, dicarbonilos, acrilamidas y heterocíclicos, aminas, y melanoidinas, estas últimas como resultado de la polimerización de los compuestos intermediarios de las RM siendo los productos finales de glicación avanzada, los cuales se consideran como productos poliméricos (polímeros y copolímeros nitrogenados) formados en los pasos avanzados de las RM, contribuyendo en su conjunto a aumentar el índice de pardeamiento del CP con el aumento del tiempo de su calentamiento. (Wang *et al.*, 2011) (Echavarría *et al.*, 2012).

Tabla 1. Parámetros de la evolución del color del café percolado con respecto al tiempo de calentamiento

Tiempo (h)	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	ΔE	Abs (A.U)
0	25.59 ± 0.01 ^a	5.70 ± 0.17 ^a	7.76 ± 0.02 ^a	0.00 ± 0.00 ⁱ	0.21 ± 0.03 ^j
0.5	25.63 ± 0.01 ^a	5.63 ± 0.17 ^a	7.72 ± 0.02 ^a	0.09 ± 0.01 ⁱ	0.24 ± 0.01 ^j
1	25.97 ± 0.02 ^a	5.65 ± 0.11 ^a	7.71 ± 0.01 ^a	0.39 ± 0.02 ^h	0.41 ± 0.02 ⁱ
2	25.43 ± 0.01 ^{a,b}	5.52 ± 0.18 ^b	7.23 ± 0.01 ^b	0.58 ± 0.03 ^g	0.46 ± 0.03 ^h
3	24.33 ± 0.01 ^{b,c}	5.46 ± 0.16 ^b	6.53 ± 0.42 ^c	1.78 ± 0.03 ^f	0.52 ± 0.01 ^g
4	23.57 ± 0.01 ^c	5.35 ± 0.19 ^c	5.36 ± 0.46 ^d	3.16 ± 0.03 ^e	0.58 ± 0.02 ^f
5	22.80 ± 0.01 ^d	5.21 ± 0.13 ^{c,d}	4.50 ± 0.01 ^e	4.32 ± 0.04 ^d	0.60 ± 0.02 ^d
6	21.78 ± 0.01 ^{d,e}	4.75 ± 0.12 ^e	3.75 ± 0.02 ^f	05.61 ± 0.04 ^c	0.63 ± 0.01 ^c

7	20.78 ± 0.02 ^f	3.25 ± 0.11 ^f	1.78 ± 0.01 ^g	8.06 ± 0.04 ^b	0.66 ± 0.01 ^b
8	19.45 ± 0.01 ^{f,g}	2.92 ± 0.13 ^g	1.26 ± 0.01 ^h	9.36 ± 0.05 ^a	0.70 ± 0.01 ^a

Los valores son el promedio de las muestras analizadas por triplicado ± D.E. Superíndices con letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$)

En la tabla 2 se muestra el pH y la evolución de las propiedades antioxidantes en el café percolado (CP). Como puede observarse, el pH disminuyó con respecto al tiempo de calentamiento del CP, lo que indica una mayor actividad de los iones H^+ . El incremento de la acidez es una característica del CP madurado, que puede atribuírsele a los compuestos reducidos.

Tabla 2. Evolución de las propiedades antioxidantes del café percolado con respecto al tiempo de calentamiento

Tiempo (h)	pH	DPPH (%)	FRAP X 10 ⁻³ (mg/mL ET)	FT X 10 ⁻³ (mg/mL ET)	Cafeína (mg/mL)
0	5.88 ± 0.03 ^a	14.88 ± 0.17 ^d	1.29 ± 0.02 ^c	1.07 ± 0.01 ^a	0.11 ± 0.01 ^c
0.5	5.82 ± 0.02 ^a	15.21 ± 0.09 ^c	1.28 ± 0.01 ^c	1.09 ± 0.02 ^a	0.11 ± 0.01 ^{b,c}
1	5.72 ± 0.03 ^{a,b}	16.30 ± 0.11 ^c	1.30 ± 0.01 ^b	1.09 ± 0.01 ^b	0.10 ± 0.01 ^b
2	5.51 ± 0.04 ^c	16.77 ± 0.178 ^b	1.27 ± 0.01 ^{b,c}	1.07 ± 0.01 ^c	0.11 ± 0.02 ^b
3	5.41 ± 0.01 ^d	16.98 ± 0.16 ^b	1.28 ± 0.42 ^b	1.10 ± 0.01 ^d	0.12 ± 0.01 ^b
4	5.32 ± 0.03 ^{d,e}	17.19 ± 0.19 ^{a,b}	1.29 ± 0.46 ^b	1.11 ± 0.01 ^c	0.15 ± 0.01 ^a
5	5.29 ± 0.02 ^e	17.61 ± 0.13 ^a	1.33 ± 0.01 ^{a,b}	1.12 ± 0.01 ^c	0.16 ± 0.02 ^a
6	5.23 ± 0.04 ^e	16.40 ± 0.12 ^a	1.39 ± 0.02 ^b	1.12 ± 0.01 ^c	0.15 ± 0.01 ^a
7	5.09 ± 0.02 ^f	16.23 ± 0.11 ^c	1.50 ± 0.02 ^a	1.16 ± 0.01 ^c	0.16 ± 0.01 ^a
8	5.02 ± 0.04 ^{f,g}	15.33 ± 0.13 ^{d,e}	1.53 ± 0.01 ^a	1.15 ± 0.01 ^c	0.16 ± 0.02 ^a

FT: Fenoles totales. Se reportan los valores promedio de muestras analizadas por triplicado ± D.E. Superíndices con letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$)

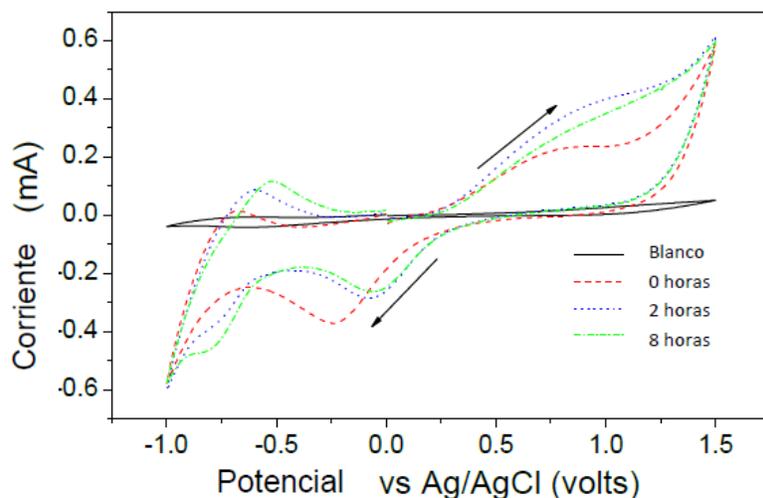
Es importante mencionar que los diferentes ensayos de actividad antioxidante dependen fuertemente de las condiciones usadas y de los sustratos o productos monitoreados. De esta forma, los métodos aplicados pueden llevar a resultados diferentes. El método DPPH analiza la actividad antirradical que se desarrolla en medios metanólicos y acuosos, mientras que FRAP estima la capacidad de reducción férrica de las muestras (Delgado-Andrade *et al.*, 2005).

Como puede observarse en la Tabla. 2, los valores del ensayo con DPPH mostraron un rápido aumento en la primera hora de calentamiento y se mantuvieron casi constantes en las horas posteriores. Por el contrario, en el caso de FRAP se mantuvo casi constante durante las primeras 4 h, y luego se observó un rápido aumento de aproximadamente el 25% durante las últimas 3 h. Por su parte, los fenoles totales también aumentaron con el tiempo, siguiendo un patrón lineal ($R^2 = 0,92$), para lograr un aumento de aproximadamente 8% después de 8 h.

En lo que respecta al contenido de cafeína, se pone en evidencia un aumento durante las primeras 4 h alcanzando un valor casi constante (alrededor de 0.15 mg.mL⁻¹) y manteniéndose así durante las siguientes horas. Estos resultados indican que el oscurecimiento y la astringencia del CP maduro fue causado por un aumento de la actividad antioxidante. Sin embargo, la actividad antioxidante ensayada usando diferentes métodos mostró patrones de aumento diferentes. En general, el desarrollo del color pardo está relacionado con un aumento de las propiedades antioxidantes, lo cual podría deberse al aumento de la concentración de melanoidinas presentes en el CP (Delgado-Andrade *et al.*, 2005). El mecanismo predominante que da lugar a compuestos que poseen actividad antioxidante en la preparación de café se debe a las reacciones de Maillard (Nicoli *et al.*, 2004). Curiosamente, el contenido de cafeína también aumentó de 0.11 a 0.16 mgmL⁻¹ durante el tiempo de calentamiento.

Así mismo, en la Fig.19, se muestra un voltamograma del CP realizado en tres momentos diferentes. Cabe señalar al respecto, que el voltamograma del agua, se empleó como blanco. Aquí para abajo

Fig. 19 Voltamperogramas del café percolado, en tres tiempos diferentes. Con fines de comparación se incluye el voltamperograma del agua empleada



La actividad de óxido-reducción mostrada por las mediciones de voltametría, muestran valores superiores para las muestras de CP en comparación con el blanco (agua). Donde el CP mostró un amplio pico de oxidación aproximadamente en el rango comprendido entre los 0.5 y los 1.0 voltios. Dicha actividad fue debilitada cuando se invirtió la dirección del potencial, alcanzando un valor de corriente cero (entre los 0.7 y los 0.75 volts). También se puede observar un pico de reducción entre los -0.5 y los 0.0 volts, lo que podría indicar la reducción de los productos obtenidos durante la oxidación de los compuestos del CP. Es de llamar la atención, que dicho pico de reducción estuvo de manera simultánea, acompañado por un pico de oxidación aproximadamente a -0.5volts, que podría estar evidenciando la oxidación de los adsorbatos producidos por la reducción que se produjo durante el primer pico de oxidación y el posterior pico de reducción.

Así, el primer pico de oxidación pone de manifiesto la capacidad de reducción que tiene el CP, lo cual puede servir como indicativo adicional de la capacidad antioxidante que presenta esta bebida. En este sentido, si se considera al CP como una sustancia que pudiese servir como reservorio de antioxidantes, se podría cuantificar su capacidad antioxidante como una capacitancia de doble capa, cuyo

valor puede calcularse mediante la integración de la corriente-potencial, mediante la siguiente manera:

$$C_E = \frac{\int_{V_{\min}}^{V_{\max}} I(V) dV}{\nu(V_{\max} - V_{\min})}$$

Donde:

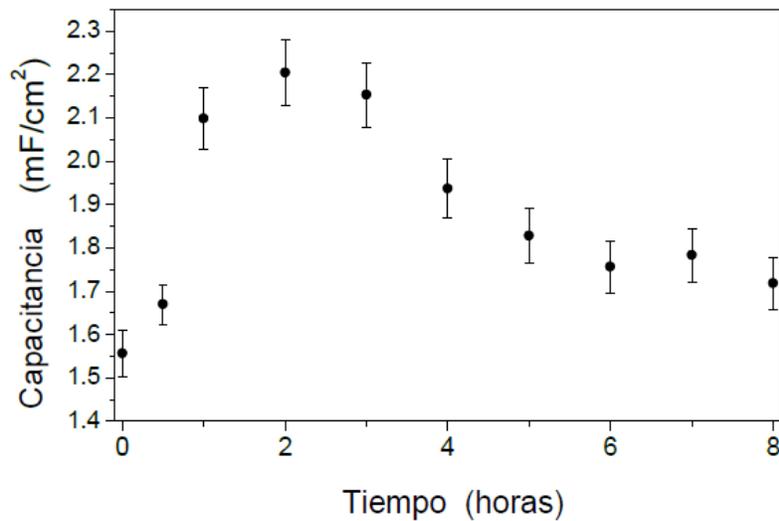
ν = velocidad de escaneo

V_{\min} y V_{\max} = valores de los voltajes mínimo y máximo, respectivamente

Como los picos de oxidación y reducción para potenciales negativos, se asociaron con productos del primer pico de oxidación, los cálculos se limitaron a los valores con potencial positivo.

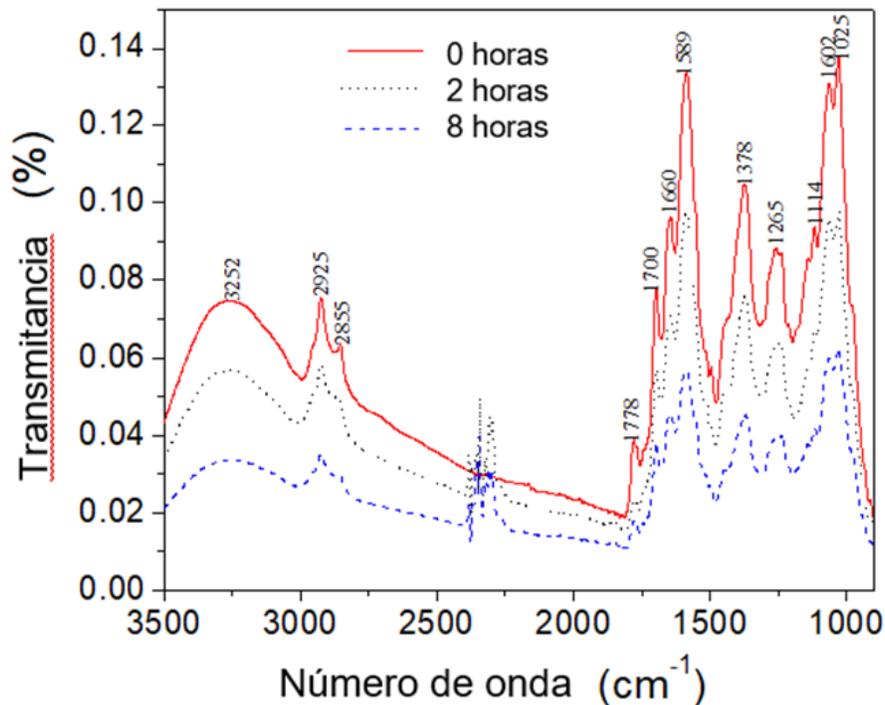
Por su parte, la Fig. 20, muestra las variaciones de la capacitancia con respecto al tiempo de calentamiento al que estuvo sometido el CP. En esta figura, puede observarse que la capacitancia mostró un rápido aumento en la primer hora, obteniendo su valor máximo poco después de la segunda hora, y posterior a este tiempo, se observa una depreciación gradual de los valores registrados. Este fenómeno de incremento en los valores obtenidos y posterior disminución, coincide con los reportados en el ensayo con el DPPH (tabla 2), sin embargo, esto no se presenta con el FRAP ni en Fenoles totales.

Fig. 20 Capacitancia eléctrica estimada por integración en el primer pico de oxidación



Con el objetivo de obtener un análisis cualitativo sobre los principales grupos funcionales que contiene el CP, se realizó el análisis de ATR-FTIR, los resultados obtenidos se muestran en la fig. 21, donde se pueden observar tres patrones de FTIR evaluados en tres muestras de CP dejadas a diferentes tiempos de exposición de calentamiento (0, 2 y 8 horas). En la imagen se puede apreciar, las bandas de absorción correspondientes a los grupos funcionales contenidos en el CP. Cabe aclarar que el significado de los picos de transmitancia, están descritos en otro documento (Liu *et al.*, 2015). El pico observado a 2855 y 1778 cm^{-1} , corresponde a estiramientos simétricos ocurridos entre los enlaces C-H, en cadenas alifáticas y a vibraciones del grupo carbonilo (C=O) en los ésteres alifáticos (Lyman *et al.*, 2003).

Fig. 21 FTIR del café percolado correspondiente a tres diferentes tiempos de calentamiento



Así mismo, en esta imagen se puede observar que las tres bandas disminuyeron conforme aumentó el tiempo de calentamiento, lo que puede estar relacionado con los lípidos presentes en el CP. Por su parte, la banda que corresponde a los 1660 cm^{-1} , puede deberse a vibraciones entre $\text{C}=\text{C}$ de los lípidos y ácidos grasos. En este sentido, las reacciones de Maillard que se llevan a cabo en el CP, provocaron una disminución de los lípidos detectables con las mediciones de FTIR. Otro punto importante, son las bandas ubicadas en 1114, 1265 y 1378 cm^{-1} , las cuales pueden ser atribuidas a los ácidos clorogénicos (CGAs), ya que éstos son ésteres formados a partir del ácido quínico y residuos de ciertos ácidos *trans*-cinámicos, como por ejemplo el caféico, *p*-cumárico y el ferúlico (Clifford *et al.*, 2008). Es de llamar la atención, que los valores relativos observados en estas bandas disminuyeron con el paso del tiempo, ya que se ha sugerido que las reacciones de *obscurecimiento* en el CP, degradan los ácidos clorogénicos, algo similar a lo que ocurre en los granos de café verde cuando son sometidos al proceso de tostado; la actividad antioxidante se incrementa, sin embargo, el contenido de ácidos clorogénicos,

particularmente de los ácidos cafeoilquínicos (CQAs), se ve disminuido (Kamiyama *et al.*, 2015) . De acuerdo con lo anteriormente expuesto, parece que el aumento de la actividad antioxidante puesta en evidencia por los ensayos de DPPH, FRAP y el contenido de cafeína, puede explicarse a partir de la degradación de los ácidos clorogénicos. Así mismo, el decremento de la actividad antioxidante detectada mediante DPPH y voltametría, podrían reflejar la degradación oxidativa del CP cuando entró en contacto con el oxígeno presente en el medio ambiente, esto se puede observar en los resultados obtenidos por voltametría, mostrados en la Fig.1, donde la máxima actividad antioxidante se tiene dentro de las 1-1.5horas después de haber preparado el CP.

7 Conclusiones

Los resultados del presente trabajo pusieron en evidencia que cuando el CP se mantuvo caliente a 75°C, aumentó su actividad antioxidante, probablemente esto se deba a la degradación de los ácidos clorogénicos (ACGs) que formaron complejos con las proteínas/carbohidratos presentes en el CP, con lo que se formaron potentes compuestos antioxidantes, como las melanoidinas. Sin embargo, la formación de estos antioxidantes compitió con la oxidación de dichos compuestos inducida por las condiciones ambientales

8 Bibliografía

- (OMS) Organización Mundial de la Salud . (2017). *Obesidad y Sobrepeso*. Centro de prensa.
- Ahn, J., Lee, H., Kim, S., Park, J., & Taeyoul, H. (2008). The anti-obesity effect of quercetin is mediated by the AMPK and MAPK signaling pathways. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 545-549.
- Alexio, L. M. (2003). Voltametría: conceptos e Técnicas. *Chemkeys*, 1-21. Obtenido de www.chemkeys.com
- AMECAFÉ-SIAP. (2017). Panorama internacional café. *ASERCA*. Recuperado el 3 de noviembre de 2019, de https://amecafe.org.mx/wp-content/uploads/2017/09/Panorama_Internacional_Caf%C3%A9_2017.pdf
- Andersen, L. F., Jacobs, D. R., Carlsen, M. H., & Blomhoff, R. (2006). Consumption of coffee is associated with reduced risk of death attributed to inflammatory and cardiovascular diseases in the Iowa Women's Health Study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 83, 1039-1046.
- Arango, R. J., Gámez, D. L., & López, Q. J. (2010). Sistema NADPH oxidasa: nuevos retos y perspectivas. *Iatreia*, 23 (4), 362-372.
- Avelino, J., Barboza, B., Araya, J., Fonseca, C. D., Guyot, B., & Cilas, C. (2005). Effects of slope exposure, altitude and yield on coffee quality in two altitude terroirs of Costa Rica, Orosi and Santo María de Dota. *Journal of the science of food and Agriculture*, 85(11), 1869-1876.
- Barquera, C. S.-N. (2010). Obesidad en México: epidemiología y políticas de salud para su control y prevención. *Gaceta médica de México*, 146, 397-407.
- Berenbaum, F., Eymard, F., & Houard, X. (2013). Osteoarthritis, inflammation and obesity. *Current Opinion in Rheumatology*, 114-118.

-
- Brezová, V., Šlebodová, A., & Staško, A. (2009). Coffee as a source of antioxidants: An EPR study. *Food Chemistry*, 113, 859–868.
- Bzducha, A. W. (2006). Synergistic of antioxidant activity of casein and its enzymatic hydrolysate in combination with ascorbic acid and hcarotene in model oxidation systems. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, 113-133.
- Cano-Marquina, A. T. (2013). The impact of coffee on health. *Maturitas*, 75.
- Clifford, M. N., Kirkpatrick, J., Kuhnert, N., Roozendaal, H., & Rodrigues Salgado, P. (2008). LC–MSn analysis of the cis isomers of chlorogenic acids. *Food Chemistry*, 106, 379-385.
- Curti, V., Capelli, E., Boschi, F., Nabavi, S., Bongiorno, A. I., Habtemariam, S., . . . Daglia, M. (2014). Modulation of human miR-17-3p expression by methyl 3-O-methyl gallate as explanation of its in vivo protective activities. *Molecular Nutrition & Food Research*, 1776-1784.
- Delgado-Andrade, C., Rufián-Henares, J. A., & Morales, F. J. (2005). Assessing the Antioxidant Activity of Melanoidins from Coffee Brews by Different Antioxidant Methods. *Journal of Agricultural .*
- Echavarría, A., Pagán, J., & Ibarz, A. (2012). Melanoidins Formed by Maillard Reaction in Food and Their Biological Activity. *Food Engineering Reviews*, 4(4), 203-223.
- Elgrishi, N., Rountree, K. J., McCarthy, B. D., & Rountree, E. S. (2018). A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. *Journal of Chemical Education*, 95, 197-206.
- ENSATU. (2016). Encuesta Nacional de salud y Nutrición de medio camino 2016. *Instituto Nacional de Salud Pública*, 64-97.
- Esquivel, P., & Jimenez, V. M. (2012). Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Research International*, 488-495.

-
- Euromonitor. (2017). Análisis del mercado de consumo de café en México 2016. *Euromonitor International*. Obtenido de https://amecafe.org.mx/wp-content/uploads/2017/08/Euromonitor_Informe_An%C3%A1lisis-de-consumo-2016-AMECAFE-Final.pdf
- Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. (2010). *Descripción del proceso productivo y beneficio del café*.
- Figueroa-Hernández, E., Pérez-Soto, F., & Godinez-Montoya, L. (2015). La producción y el consumo de café. *ECORFAN*, 2-5.
- Flores, E., Ballesteros, M. Y., & Korswagen, R. P. (1996). Voltametría Cíclica: la espectroscopía electroquímica. *Revista química*, X(1), 23-30.
- Ghavipour, M. S. (2015). Tomato juice consumption improves blood antioxidative biomarkers in overweight and obese females. *Clinical Nutrition*, 34(5), 805-809.
- Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J., & Jiang, Y. (2003). Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Research*, 23, 1719-1726.
- Hemalatha, R., Nivetha, P., Mohanapriya, C., . Sharmila, G., Muthukumar, C., & Gopinath, M. (2016). Phytochemical composition, GC-MS analysis, in vitro antioxidant and antibacterial potential of clove flower bud (*Eugenia caryophyllus*) methanolic extract. *Food Sci Techno*, 53(2), 1189-1198.
- Jeszka-Skowron, M., Zgola--Grzésekowiak, A., & Grzésekowiak, T. (2015). *Analytical methods applied for the characterization and the determination of bioactive compounds in coffee* (Vol. 240).
- Jimenez, N., Londoño, J., & Arango, G. J. (2005). Actividad Captadora de Radicales Libres y Citotoxicidad. *Acta Farm. Bonaerense*, 337-42.

-
- Kamiyama, M., Moon, J.-K., Jang, H. W., & Shibamoto, T. (2015). Role of Degradation Products of Chlorogenic Acid in the Antioxidant Activity of Roasted Coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 1996-2005.
- Karabudak, E., Türkösü, D., & Kóksal, E. (2015). Association between coffee consumption and serum lipid profile. *Experimental and therapeutic medicine*, 9, 1841-1846.
- Karelis, A., St-Pierre, D., Conus, F., Rabasa-Lhoret, R., & Poleman, E. (2004). Metabolic and body composition factors in subgroups of obesity: What do we know? *The Journal of clinical Endocrinology & Metabolism*, 2569-2575.
- Keaney Jr JF, L. M. (2003). Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 434-439.
- Lee, B., Seo, J. D., & Rhee, J.-K. K. (2016). Heated apple juice supplemented with onion has greatly improved nutritional quality and browning index. *Food Chemistry*, 201, 315-319.
- Liang, N., Lu, X., Hu, Y., & Kitts, D. (2016). Application of Attenuated Total Reflectance-Fourier Transformed Infrared (ATR-FTIR) Spectroscopy to Determine Chlorogenic acid Isomer Profile and Antioxidant Capacity of Coffee Beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1-37.
- Liu, C., Pujol, D., Olivella, M., De la Torre, F., Flol, N., Poch, J., & Villaescusa, I. (2015). The role of exhausted coffee compounds on metal ions sorption. *Springer International* , 226, 1-10.
- Liu, Y., & Kitts, D. D. (2011). Confirmation that the Maillard reaction is the principle contributor to the antioxidant capacity of coffee brews. *Food Research International*, 44, 2418–2424.
- Ludwig, I. A., Sanchez, L., Caemmerer, B., Kroh, L. W., De Peña, M., & Cid, C. (2012). Extraction of coffee antioxidants: impact of brewing time and method. *Food Research International*, 48, 57-64.

-
- Lyman, D. J., Benck, R., Dell, S., Merle, S., & Murray-Wijelath, J. (2003). FTIR-ATR analysis of brewed coffee: effect of roasting conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3268-3272.
- Miranda, G., Ventura H, J., Suárez C, S., & Fuentes R, C. (2007). Actividad citotòxica y antioxidante de los productos de la reacciòn de Maillard de los sistemas modelo D-Glucosa-glicina y D-Glucosa-L-Lisina. *Rev Soc Quím Perú*, 73(4), 215-225.
- Miranda, I. G., Ventura, H. J., Suarez, C. S., & Fuentes, R. C. (2007). Actividad citotòxica y antioxidante de los productos de la reacciòn de Mailard de los sistemas modelo D-glucosa-glicina y D-glucosa-Llisina. *Rev Soc Quím Perú*., 73(4), 215-225.
- Moguel, P., & Toledo, V. M. (1996). El café en México, ecología, cultura indígena y sustentabilidad. *CIENCIAS*, 43, 40-51.
- Nabavi, S., Habtemariam, S., Daglia, M., Shafighi, N., Barber, A., & Navabi, S. (2015). Anthocyanins as a potential therapy for diabetic retinopathy. *Current Medicinal Chemistry*, 51-58.
- Naegele, E. (2013). Determination of Caffeine in Coffee Products According to DIN 20481. *Agilent Technologies Application Note, publication number 5991-2851EN*. Obtenido de <http://www.chromatographyonline.com/analysis-coffee-and-coffee-products-hplc-determination-natural-components-and-harmful-contamination-0>
- Nicoli, M., Manzocco, L., & Lericci, C. (1997). Antioxidant Properties of Coffee Brews in Relation to the Roasting Degree. *LWT-Food Science and Technology*, 30, 292–297.
- Nieber, K. (2017). The Impact of Coffee on Health. *Planta Medica*, 83, 1256-1263.
- OIC. (2018). Anuario de la OIC 2017/18. *Oregonización Internacional del Cafè*, 24-34. Obtenido de <http://www.ico.org/documents/cy2018-19/annual-review-2017-18-c.pdf>

-
- OMS. Organización Mundial de la Salud. (2016). *Informe de la comisión para acabar con la obesidad infantil*. Ginebra, Suiza: Impreso por el Servicio de producción de documentos de la OMS.
- Oroian, M. I. (2015). Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International*, 10-36.
- Patras, A. T. (2009). Modelling the effect of different sterilization treatments on antioxidant activity and colour of carrot slices during storage. *Food Chemistry*, 489–491.
- Pérez, D. M. (2 de Julio de 2015). El succulento negocio de la comida charra en México. *El País*.
- Puntel, R. L., Roos, D. H., Grotto, D., García, S. C., Nogueira, C. W., & Teixeira-Rocha, J. B. (2007). Antioxidant properties of Krebs cycle intermediates against malonate pro-oxidant activity in vitro: A comparative study using the colorimetric method and HPLC analysis to determine malondialdehyde in rat brain homogenates. *Life Sciences*, 81, 51-62.
- Raba, D. N., Poiana, M.-A., Borozan, A. B., Stef, M., Radu, F., & Popa, M.-V. (2015). Investigation on Crude and High-Temperature. *PLoS ONE*, 1-20.
- Ramirez-Velasco, L., Armandáriz-Ruiz, M., Arrizon, J., Rodriguez-González, J., & Mateos-Díaz, J. (2016). Liberación de cafeic acid from coffee pulp using an extract with chrogenate esterase activity of *Aspergillus ochraceus* produced by solid state fermentation. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 15(2), 503-512.
- Rodriguez, M. (2015). La física y química en el tueste del café. *Fórum Café*, 38-45.
- SAGARPA. (2016). Planeación Agrícola Nacional (2017-2030). 1-20.
- Sanabria, L. M., Martínez, J. A., & Yolima, B. (2017). Validación de una metodología analítica por HPLC-DAD para la cuantificación de cafeína en un ensayo de

permeación in vitro empleando mucosa oral porcina. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 46(2), 202-219.

Sen Li., G. C. (2014). Research progress of natural antioxidants in foods for the treatment of diseases. *Elsevier*, 110-116.

Shahbabdeh, M. (21 de Octubre de 2019). *Statista*. Obtenido de <https://www.statista.com/statistics/263311/worldwide-production-of-coffee/>

Sharmila, G., Nikitha, V., Ilaivarasi, S., Dhivya, K., Rajasecar, V., Manoj Kumar, N., . . . Muthukumaran, C. (2016). Ultrasound assisted extraction of total phenolics from *Cassia auriculata* leaves and evaluation of its antioxidant activities. *Industrial Crops and Products* 84, 13-21.

Sousa, M. B., Santos, J. R., Almeida, P., & Rodrigues, J. (2018). Low pressure ion pair chromatography with amperometric detection for the determination of trigonelline in coffee samples. *Food Research International*, 114, 223-229.

UNIVERSAL, E. (09 de 03 de 2018). Sector cafetalero, prioridad para SAGARPA.

Valdecantos, M. P., Pérez-Matute, P., & Martínez, J. A. (2009). Obesidad y estrés oxidante: papel de la suplementación con antioxidantes de la dieta. *Revista de Investigación Clínica*, 61(2), 127-139.

Vega, A., & De León, J. A. (2017). Determinación del Contenido de Polifenoles Totales, Flavonoides y Actividad Antioxidante de 34 Cafés Comerciales de Panamá. *Información Tecnológica*, 29-38.

Wang, H.-Y., Quian, H., & Yao, W.-R. (2011). Melanoidins produced by the Maillard reaction: Structure and biological activity. *Food Chemistry*, 128, 573-581.

Weisberg SP, M. D. (2003). Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue . *J. Clin. Invest.*, 1796-1808.

Wu, T., Shiau, S., & Chang, R. (2013). Effects of drying temperature and extraction solvent on the antioxidant, color and sensory properties of *Angelica sinensis* leaves. *Journal of Food Processing and Preservation*, 37(4), 371-379.

-
- Yanagimoto, K., Lee, K.-G., Ochi, H., & Shibamoto, T. (2002). Antioxidative Activity of Heterocyclic Compounds Found in Coffee Volatiles Produced by Maillard Reaction. *Agricultural and food Chemistry*, 50, 5480-5484.
- Zoric, Z. D.-U. (2014). Kinetics of the degradation of anthocyanins, phenolic acids and flavonols during heat treatments of freeze-dried sour cherry marasca paste. *Food Technology and Biotechnology*, 101-108.

9 Anexos

Tabla 3 Valores de Absorbancia obtenidos en el ensayo DPPH, para la elaboración de la curva estandar

DPPH (CURVA ESTANDAR CON TROLOX)					
TROLOX [$\mu\text{g}/\text{ml}$]	ABS (517nm)			PROMEDIO	%INHIBICIÓN
0.4	0.658	0.659	0.657	0.6575	8.891
0.8	0.649	0.649	0.647	0.648	10.208
1.2	0.626	0.625	0.625	0.6255	13.326
3	0.599	0.597	0.6	0.5995	16.928
6	0.498	0.499	0.498	0.498	30.993
8	0.416	0.415	0.415	0.4155	42.425
10	0.288	0.285	0.288	0.288	60.092
15	0.112	0.116	0.115	0.1135	84.273
18	0.03	0.033	0.041	0.0355	95.081
CONTROL	0.727	0.725	0.713	0.72166667	

Fig. 22 Curva estándar para la determinación de la captación de radicales libres con DPPH y Trolox

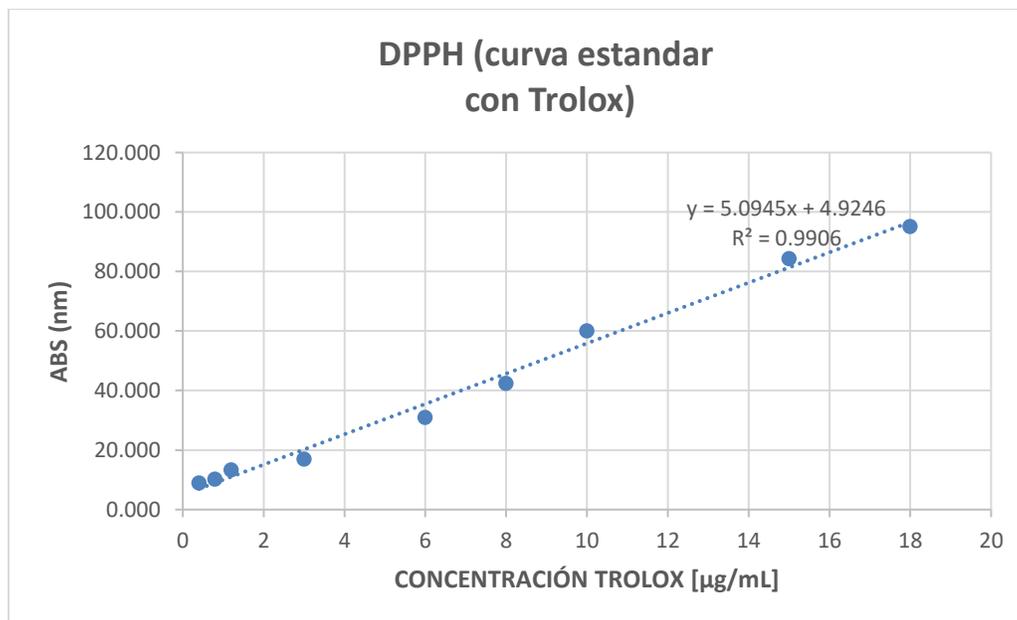


Tabla 4 Valores de Absorbancia obtenidos en el ensayo de Fenoles Totales, para la elaboración de la curva estandar

FENOLES TOTALES (CURVA ESTANDAR CON TROLOX)

TROLOX [$\mu\text{g/ml}$]	Abs (760nm)			Promedios
0	0.006	0.009	0.007	0.0073
5	0.024	0.029	0.026	0.0263
10	0.063	0.071	0.067	0.0670
15	0.113	0.114	0.113	0.1133
25	0.199	0.201	0.201	0.2003
30	0.254	0.252	0.253	0.2530
40	0.37	0.352	0.358	0.3600
45	0.423	0.421	0.422	0.4220

Fig. 23 Curva estándar para la dterminación de Fenoles Totales, empleando Follin-Ciocalteu y Trolox

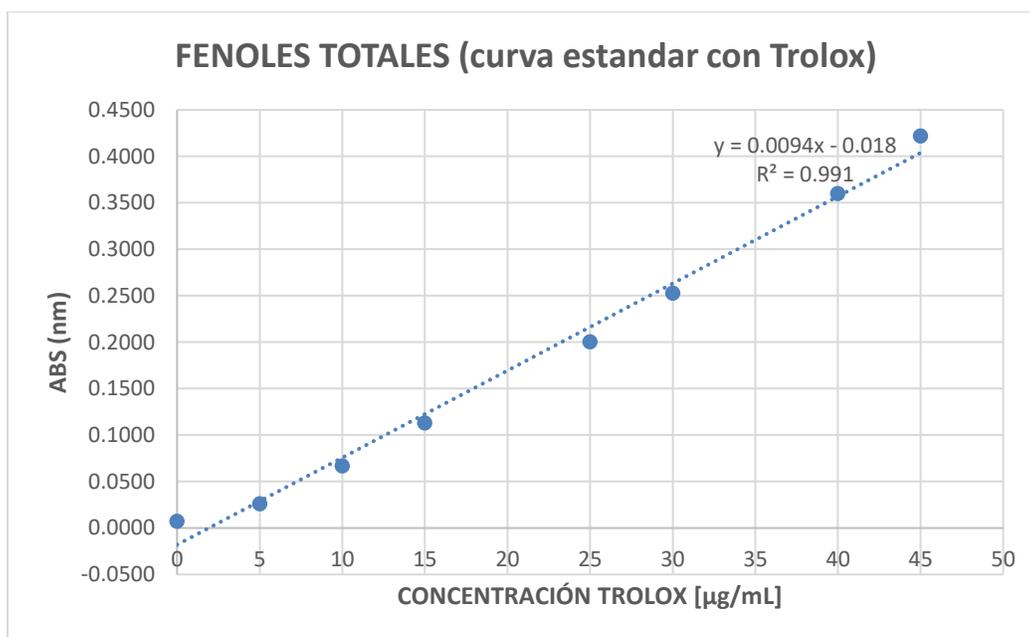


Tabla 5 Valores de Absorbancia obtenidos en el ensayo de FRAP, para la elaboración de la curva estandar

FRAP (CURVA ESTANDAR CON TROLOX)

TROLOX [$\mu\text{g/ml}$]	Abs (595nm)			Promedios
0.85	0.052	0.051	0.052	0.0517
1.5	0.099	0.101	0.101	0.1003
5	0.181	0.182	0.179	0.1807
10	0.331	0.33	0.328	0.3297
25	0.652	0.651	0.651	0.6513
35	0.912	0.914	0.915	0.9137
45	1.212	1.212	1.21	1.2113
55	1.523	1.521	1.521	1.5217

Fig. 24 Curva estándar para la determinación de Capacidad antioxidante Total, empleando FRAP

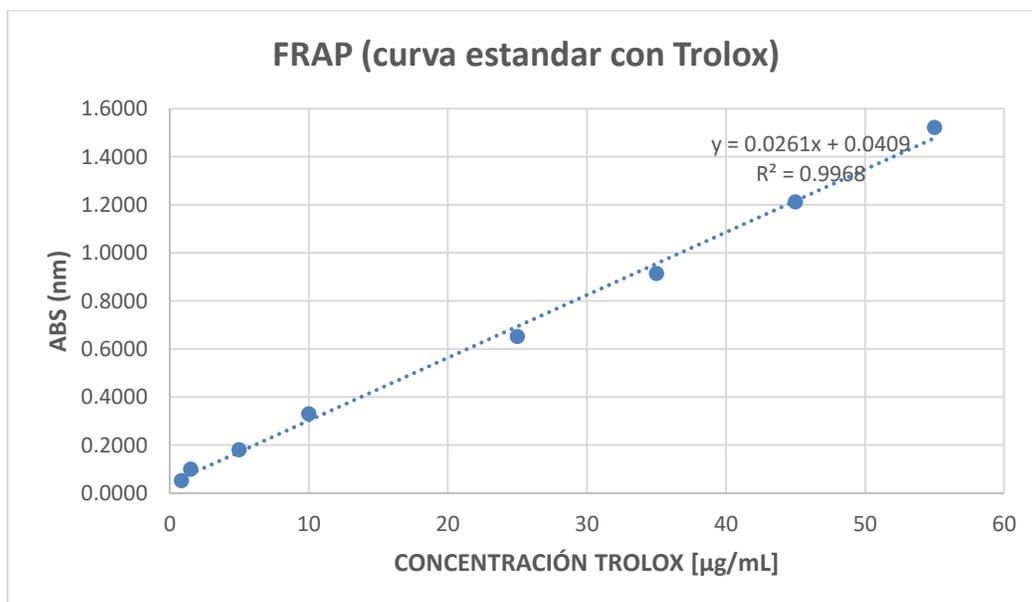


Fig. 25 Cromatograma con HPLC del estandar de cafeína

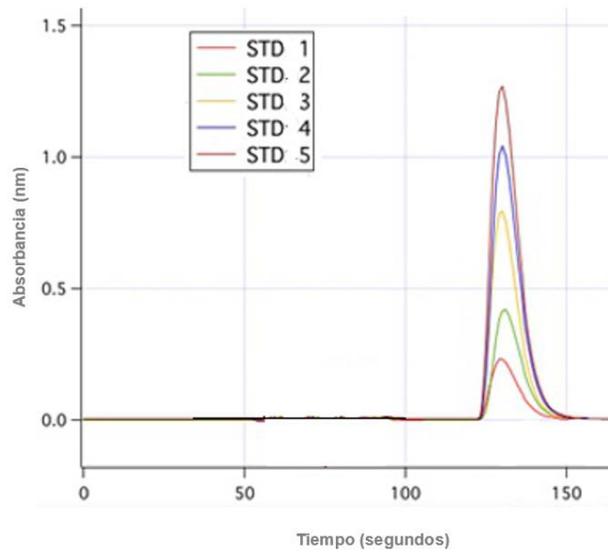
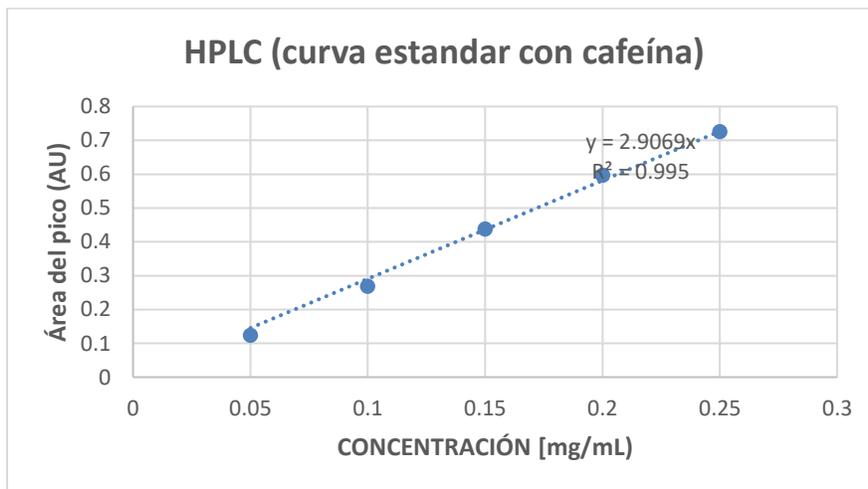


Tabla 6 Valores calculados de las áreas de los picos a partir de los cromatogramas de HPLC

HPLC (CURVA ESTANDAR CON CAFEÍNA)	
CAFEÍNA [mg/ml]	Área del pico (AU)
0.05	0.124
0.1	0.269
0.15	0.438
0.2	0.597
0.25	0.726

Fig. 26 Curva estándar para la determinación del contenido de cafeína





EVOLUTION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY IN HEATED COFFEE BREW
EVOLUCIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN CAFÉ PERCOLADO Y CALENTADO

C. Martínez-Ruiz¹, G. Lozano², C. Roldan-Cruz³, M. Meraz³, M.E. Rodríguez-Huezo^{1*}

¹Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec, Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica, Av. Tecnológico s/n esq. Av. Central, Col. Valle de Anáhuac, Ecatepec, Edo. Méx., 55210 México.

²Academias de Agroindustrias y Apicultura. Centro Bachillerato Tecnológico Agropecuario Número 35. Km. 22.5 Carr. Méx-Puebla Tlalpizáhuac. Municipio Valle de Chalco Solidaridad. Estado de México, 56560, México.

³Departamento de Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Apartado Postal 55-534, Ciudad de México, 09340 México.

Received January 17, 2018; Accepted January 29, 2018

Abstract

Coffee brew (CB) was prepared using a standard filter coffeemaker (24 g of ground roasted coffee, 400 mL of water). The glass flask containing CB was maintained in the coffeemaker hot-plate at 75 °C. The antioxidant activity was monitored and assayed during 8 h by means of DPPH, FRAP, total phenols content, browning index and voltammetry. Antioxidant activity showed a fast increase during the first 1.0-1.5 h. Heating times longer than about 2 h produced nearly constant values for FRAP, total phenols and caffeine contents, but DPPH and oxidative capacity by voltammetry decreased probably due to the oxidation of antioxidant compounds by oxidative stress induced by adverse environmental factors. It was postulated that Maillard reaction products were formed in the heated CB, probably due to the degradation of chlorogenic acids (CGAs) that complexed with proteins/polysaccharides, giving way to potent antioxidants compounds such as melanoidins.

Keywords: coffee brew, heating time, antioxidant activity, Maillard reactions products

Resumen

Se preparó café (CB) con una cafetera de goteo estándar (24 g de café tostado molido, 400 mL de agua). El recipiente de vidrio conteniendo CB se mantuvo sobre la placa caliente de la cafetera a una temperatura de 75 °C. Se monitoreó y determinó la actividad antioxidante durante 8 h por medio de DPPH, FRAP, contenido total de fenoles, índice de pardeamiento y voltametría. La actividad antioxidante mostró un rápido incremento durante las primeras 1.0-1.5 h. Un calentamiento de aproximadamente 2 h o más produjo valores casi constantes de FRAP, fenoles totales y cafeína, pero DPPH y la capacidad oxidativa por voltametría disminuyeron, probablemente debido a la oxidación de los compuestos antioxidantes por estrés oxidativo inducido por factores ambientales adversos. Se postuló que se formaron productos de reacciones de Maillard en el café caliente, probablemente debido a la degradación de los ácidos clorogénicos (CGAs) que se complejaron con proteínas/polisacáridos, dando origen a potentes compuestos antioxidantes tales como las melanoidinas.

Palabras clave: café percolado, tiempo de calentamiento, actividad antioxidante, productos de reacciones de Maillard.

1 Introduction

World coffee consumption was of approx. 9.08 million metric tons in 2015/2016 (ICO, 2016). Besides its sensorial properties, brewed coffee is an important source of antioxidants, which play an important role as health protecting factors (Nicoli *et al.*, 1997; Brezová *et al.*, 2009; Nieber, 2017). For instance, consumption of coffee brew (CB) has been linked to reduced risk of death attributed to inflammatory

and cardiovascular diseases (Andersen *et al.*, 2006), and to reduced incidence of diabetes and liver disease (Cano-Marquina *et al.*, 2013). Coffee has a high content of phenolic acids, particularly of chlorogenic acids (CGAs), with CGAs contents ranging from 2.3 to 26 g.kg⁻¹ (Ramírez-Velasco *et al.*, 2016). Maillard reaction products (MRPs) are the prevailing antioxidants in roasted coffee. The antioxidant action associated with roasted MRPs involved hydrogen atom transfer and single electron transfer mechanisms (Liu and Kitts, 2011). However, high chain-breaking and oxygen consumption activities do not increase

* Corresponding author. E-mail: eva_rodriguez_huezo@hotmail.com