

Contenidos de cafeína, ácido clorogénico, actividad antioxidante y evaluación organoléptica de la infusión de café regional preparado por tres diferentes técnicas

Ana Luisa Mendizábal de Montenegro¹, Patricia Palacios de Palomo², Ana Silvia Colmenares de Ruiz², Ana Elena Colocho³, Conrado Duque⁴ & Melanie Argueta⁴

¹Centro de Ingeniería Bioquímica, ²Centro de Estudios Agrícolas y Alimentarios, Estudiantes ³Maestría en Tecnología de Alimentos y Gestión, ⁴Licenciatura en Ingeniería en Ciencias de Alimentos, Universidad del Valle de Guatemala

RESUMEN: Se determinó el contenido de cafeína, ácido clorogénico, actividad antioxidante en infusiones de café de ocho regiones de la República de Guatemala: Acatenango, Antigua, Atitlán, Cobán, Fraijanes, Huehuetenango, Nuevo Oriente y San Marcos; preparados de tres formas diferentes: hervido, percolado y expreso. También se les realizó evaluación organoléptica. Se encontró que el café hervido contiene mayor concentración de cafeína y ácidos clorogénicos en el café de Fraijanes y menor para Nuevo Oriente; los polifenoles mayor concentración para Atitlán y menor en Antigua; pH mayor para Atitlán y menor para Cobán. En el caso de café de percoladora, la mayor concentración de cafeína y ácidos clorogénicos se encontró en Antigua, mientras que cafeína fue menor en Cobán y ácidos clorogénicos en Atitlán. Para los polifenoles mayor concentración en Cobán y menor en Atitlán siendo para el caso de pH lo contrario. Y finalmente el café expreso, la mayor concentración de cafeína se encontró en Fraijanes y la menor en Cobán. Ácidos clorogénicos mayor concentración en Cobán y menor en San Marcos, Polifenoles mayor en Cobán y menor en San Marcos y el pH fue mayor en las regiones Antigua, Acatenango y Atitlán y menor en Cobán. Para la evaluación organoléptica la acidez se notó más en el café de Cobán, la astringencia predominó en el de Atitlán, el amargor fue muy similar entre Antigua y Nuevo Oriente, predominando en Antigua. Y por último fragancia/aroma gustaron más Cobán y San Marcos.

PALABRAS CLAVE: café, cafeína, ácido clorogénico, actividad antioxidante, evaluación organoléptica, calidad.

Caffeine, and chlorogenic acid contents, antioxidant activity, and organoleptic evaluation of regional infusion of coffee prepared by three different techniques

ABSTRACT: The content of caffeine, chlorogenic acid, and antioxidant activity in coffee brews from eight regions of the Republic of Guatemala: Acatenango, Antigua, Atitlan, Coban, Fraijanes, Huehuetenango, San Marcos and New Oriente; prepared in three different ways: boiled, espresso and brewed. There were also conducted sensory evaluations. It was found that the boiled coffee contains higher concentration of caffeine and chlorogenic acids in the *Fraijanes* and lower for *New Oriente* coffee; the higher polyphenol concentration and lowest in *Antigua* and *Atitlan* respectively; higher for *Atitlan* and lower *Coban* for pH. For percolated coffee, the higher concentration of caffeine and chlorogenic acids is found in *Antigua*, while *Coban* was lower in caffeine and chlorogenic acids in *Atitlán*. For higher polyphenols concentration *Coban* and lower for *Atitlán*, in pH it occurred otherwise. And finally the espresso, the highest concentration of caffeine found in *Fraijanes* and the lowest in *Coban*. Chlorogenic acids greater concentration in *Coban* and lower in *San Marcos*, Polyphenols higher in *Coban* and less in *San Marcos* and the pH was higher in *Antigua*, *Atitlán* and *Acatenango* regions and lower in *Coban*. For sensory evaluation acidity was noted more in *Coban* coffee, astringency dominance in *Atitlan*, the bitterness was very similar between *Antigua* and *New Oriente*, predominating in *Antigua*. And finally fragrance/scent liked more *Coban* and *San Marcos*.

KEYWORDS: coffee, caffeine, chlorogenic acid, antioxidant activity, sensory evaluation, coffee quality.

Introducción

El mercado mundial del café se encuentra saturado, existiendo más oferta que demanda. Los países productores buscan incrementar precios resaltando la calidad del café que producen y por ende intentan que en el comercio se emplee como patrón, algún tipo de certificado de origen que garantice calidad. En Guatemala, la crisis económica social que ha provocado la inestabilidad del mercado del café ha sido profunda, principalmente por la gran cantidad de empleo que la producción demanda.

El estudio del café busca contribuir a este esfuerzo que ya se lleva a cabo a nivel comercial para resaltar la calidad y las bondades del café guatemalteco. En la actualidad, el comercio del café busca indicadores de calidad y diferentes técnicas de cultivo tales como el café orgánico, el café ecológico o el café preferente, para darle un valor agregado y lograr así mejores precios. Los países productores de café compiten entre sí por satisfacer las crecientes demandas. Por lo tanto lograr establecer la relación de la calidad con el país y la zona de origen, basada en información veraz y validada, por los consumidores y los productores, se ha convertido en una necesidad.

La calidad de una taza de café, con frecuencia se asocia al resultado de un análisis organoléptico, aroma y sabor, como características principales, realizado por expertos catadores. Pero se ha intentado buscar una relación entre los patrones de análisis químicos y los resultados del análisis organoléptico (Semmelroch & Grosch, 1996; Czerny et al, 1999).

El café como las frutas y las hortalizas poseen distintos compuestos bioactivos, entre los que destacan los antioxidantes, compuestos de distintas naturaleza química, que incluyen a las vitaminas C y E, polifenoles, carotenoides y terpenoides, entre otros. Estos compuestos se han relacionado con la prevención de distintos procesos crónicos, como la enfermedad cardiovascular, algunos desórdenes neurológicos y ciertos procesos inflamatorios. (Pérez-Jiménez & Saura-Calixto, 2007).

La calidad del café en Guatemala se evalúa por expertos catadores de gremios y asociaciones, como también de empresas comercializadoras de países productores. No existe investigación previa sobre la composición química del café de Guatemala, ni datos de su capacidad antioxidante. Con un consumo anual de cerca de 5 millones de toneladas, el café es una de las bebidas más populares en el mundo. El café en Guatemala continúa siendo un producto importante en las exportaciones del agro. Además es importante recalcar que actualmente el café es producido por un gran número de pequeños empresarios agrícolas asociados en cooperativas, grupos regionales y otros a nivel individual. Tanto la ANACAFÉ como la AGEXPORT apoyan el cultivo del café de estos agricultores y promueven su exportación a mercados tradicionales de consumo, como también a nuevos mercados, tanto geográficos como de productos finales diferentes. El consumidor habitual de café lo prefiere por su deseable sabor y aroma, como también por sus propiedades estimulantes. Lo que se pretende con este

estudio es dar un primer paso en la clasificación del café del país de acuerdo a criterios relacionados al gusto de la bebida medida con la caracterización química del aroma y establecer su relación con la capacidad antioxidante que posee.

Guatemala produce excelentes cafés, muy cotizados en los mercados internacionales. Su calidad proviene desde su origen. Diferentes altitudes que permiten el cultivo de café de altura en casi toda la geografía nacional; variedad de microclimas con patrones de lluvia altamente beneficiosos para cultivo del café, suelos ricos en minerales, abundantes fuentes de agua, son algunas de las variables que hacen especiales a los cafés de Guatemala (ANACAFE, 2015).

Anacafé ha realizado la promoción de los cafés de Guatemala, clasificándoles en 8 regiones, que con el fin de unificar los procesos de beneficiado, son los que se utilizaron en este estudio: Acatenango, Antigua, Atitlán, Cobán, Fraijanes, Huehuetenango, Nuevo Oriente y San Marcos.

Acatenango: El grano es cosechado a la sombra a alturas que alcanzan los 2,000 metros, en suelos ricos en minerales. El secado se realiza al sol. Las variedades que se producen en esta región son: *Bourbon, Caturra y Catuai*.

Antigua: Se cultiva por encima de los 1,500 metros, en un suelo volcánico rico en minerales, bajos niveles de humedad compensados por la presencia de piedra pómez, mucho sol, noches frías. Las variedades que se producen en esta región son: *Bourbon, Caturra y Catuai*.

Atitlán: posee un suelo rico en materia orgánica, suelo rico en minerales, sol y en altitudes que superan los 1,500 metros, se cultiva el 90% del café producido en la región. Las variedades que se producen en esta región son: *Bourbon, Typica, Caturra y Catuai*.

Cobán: Region con altos niveles de nubosidad, lluvia y frío todo el año, el Cobán se cultiva entre los 1,300 y 1,500 metros sobre el nivel del mar, suelos arcillosos y piedra caliza que reciben la influencia tropical de la Cuenca del Atlántico. Las variedades que se producen en esta región son: *Bourbon, Maragogype, Caturra, Pache y Catuai*.

Fraijanes: De suelos volcánicos con piedra pómez, enriquecidos periódicamente por los minerales que provienen del Volcán de Pacaya, la región de Fraijanes con abundante lluvia, humedad variable y un extenso rango de temperaturas. En ella, el café se cultiva entre los 1,400 a los 1,700 metros sobre el nivel del mar. Las variedades que se producen en esta región son *Bourbon, Caturra, Pache y Catuai*.

Huehuetenango: De las regiones no volcánicas de Guatemala, Huehuetenango es la más alta y seca se cultiva en alturas que alcanzan los 2,000 metros sobre el nivel del mar. Las variedades que se producen en esta región son: *Bourbon, Caturra y Catuai*.

Nuevo Oriente: Lluviosa y nublada, posee suelos balanceados en minerales, en alturas que van de los 1,300 a los 1,700 metros. Las variedades que se producen en esta región son: Bourbon, Caturra, Catuái y Pache.

San Marcos: clima cálido, suelos ricos en minerales y lluvias, en San Marcos se cultiva entre los 1,300 y 1,800 metros sobre el nivel del mar. Las variedades que se producen en esta región son: Bourbon, Caturra y Catuái (ANACAFE, 2015).

A continuación se presentan los resultados de la caracterización química del café de estas ocho regiones preparado por tres técnicas diferentes y el análisis sensorial de las mismas.

Materiales y métodos

• Muestras de café

Se utilizaron ocho muestras distintas de café de las ocho regiones establecidas en Guatemala por ANACAFE, siendo estas las descritas en la introducción.

• Determinación de cafeína

Se preparó una serie de soluciones estándar de cafeína entre 5 y 25 partes por millón (ppm) para realizar la curva de calibración. Se ajustó las condiciones cromatográficas utilizando un cromatógrafo líquido marca Agilent modelo 1100 equipado con detector ultravioleta y con una columna Eclipse Plus C-18, 5µm de tamaño de la partícula (100 mm x 4.6 mm). Se utilizó una longitud de onda de 274 nm, con tiempo de corrida de 3 min. Como fase móvil se utilizó una mezcla de metanol-agua en proporción 30:70 en volumen a flujo de 1.5 ml/min y volumen de inyección 20 µL. Las concentraciones de la cafeína fueron calculadas utilizando la ecuación de regresión lineal.

Para la preparación de las muestras y análisis de cafeína se pesó 100 mg de muestra en un beaker de 100 ml, se agregó 50 ml de agua desmineralizada, se calentó a 50°C durante una hora con agitación constante. Luego de eso, trasvasó cuantitativamente y se aforó a 100ml en un balón volumétrico. se filtró cada una de las muestras con un filtro marca Millex 0.22µm hacia un vial cromatográfico, y posteriormente se inyectó cada una de las muestras del café en duplicado. Se calculó la concentración de cafeína. Según la teoría, el café Arábica después de tostado aún mantiene un porcentaje de 0.2% de ácidos clorogénicos equivalentes a 0.014g de materia seca. De igual manera, se realizó la determinación por cromatografía líquida filtrando 2 mL de cada una de las muestras con un filtro marca Millex 0.22µm hacia un vial. Posteriormente se inyectó y se calculó la concentración de ácidos clorogénicos utilizando el valor del área en la ecuación de regresión lineal.

• Determinación de capacidad antioxidante por método de DPPH

Se preparó estándares y muestras según el método en el anexo.

• Determinación de polifenoles

Se preparó cada una de las soluciones de Folin-Ciocalteu al 10%, Catecol, y carbonato de Sodio 7.5%, los dos primeros se protegieron de la luz. Luego se realizó la preparación de la curva estándar preparando 5 tubos y un blanco siguiendo las diluciones del Cuadro 1, las cuales se agregaron en el siguiente orden: Catecol, Agua, Bicarbonato de Sodio, Reactivo de Folin diluido. Una vez agregado el reactivo de Folin, se agitó cada tubo durante 10 segundos con un vortex. Luego, los tubos se colocaron en baño de María a temperatura de 45°C durante 20 min. Se obtuvo la lectura de la elaboración de la curva estándar de calibración a una longitud de onda de 765 nm.

Para la preparación de las muestras se tomó 50ml de una solución agua-metanol, 30:70, para mezclar con 10ml de cada uno de los extractos de café preparados según su técnica. Se agitó a temperatura ambiente durante una hora. Se filtró usando filtros Whatman #4. A cada tubo, se le adicionó cada uno los reactivos anteriores, en el siguiente orden: muestra 1ml, carbonato de Sodio 2.0ml y folin 2.5 ml. Se agitó por 10 segundos en un vortex y se colocaron en un baño de María por 20 min a temperatura de 45°C. Luego de lo que se leyó la absorbancia de cada tubo, se utilizó como blanco la solución preparada en el Cuadro 1. Se determinó la concentración de polifenoles.

• Degustación de las muestras

El análisis organoléptico de la taza preparada se efectuó por consumidores previamente seleccionados y capacitados, miembros del personal de la UVG. Se procedió a realizar una convocatoria entre el personal de la UVG, de la cual se seleccionó una muestra en base a un cuestionario inicial. Luego de esta pre selección se sometió a los finalistas a pruebas de identificación de gusto (diferentes sabores), olores (entre 10 olores de aceites esenciales a diferentes concentraciones), concentración de sabores (con sustancias acidas, amargas y dulces a diferentes concentraciones para su diferenciación) escogiendo a los que obtuvieron una puntuación arriba de 60%. Ya con un grupo final de 6 catadores se procedió a trabajar en el entrenamiento básico y luego ya el trabajo con las muestras. Se fue trabajando

Cuadro 1. Preparación de diluciones

No. Tubo	Volumen de Agua (ml)	Volumen de solución de Catecol (ml)	Volumen de solución Folin (ml)	Volumen de solución de carbonato de sodio (ml)
1	0.8	0.2	2.5	2.0
2	0.6	0.4	2.5	2.0
3	0.4	0.6	2.5	2.0
4	0.2	0.8	2.5	2.0
5	0	1.0	2.5	2.0
Blanco	1.0	0	2.5	2.0

dos muestras por sesión y analizando una de las características a la vez en un total de 16 sesiones. Las pruebas se realizaron en el laboratorio sensorial de la UVG (Fotos 1 y 2).

Las muestras se prepararon pesando 8.25g de café en 150 ml de agua a 93°C. Se colocó en tazas de 6 onzas de poliestireno blanco (Foto 3). El café se dejó por 3 a 5 min en reposo y luego se agitó. Se le proporcionó a cada persona un cuestionario con una escala hedónica para evaluar las 4 características a estudiar con valores de 0 (falta o ausencia) hasta 5 (presencia o máxima sensación) (ver Anexo), según lo establece la SCAA por sus siglas en inglés (Specialty Coffee Association of America).

Resultados y discusión

Luego de la realización de los análisis y el análisis de los resultados, se puede observar que la región que presentó una mayor cantidad de cafeína así como ácidos clorogénicos fue la región de Antigua. En cuanto a la región con menor contenido de cafeína fue Cobán, pero en ácidos clorogénicos se encuentra Fraijanes con el menor porcentaje en peso, de acuerdo al Cuadro 2. Se ha encontrado que la especie de café Arábico posee una concentración entre 0.9% - 1.5% de contenido de cafeína, y se puede observar que todos los cafés están dentro de este rango. Es importante mencionar, para cada una de las regiones existen diferentes condiciones climáticas, una variedad de altitudes, y tipos de suelo, entre otras, por lo que existen variaciones entre cada una de las regiones establecida.

En relación al tostado de los granos, algunos estudios han demostrado que a partir la reacción de Maillard se forman melanoidinas que poseen un alto peso molecular y estas moléculas no han sido estudiadas completamente a causa de su composición compleja, pero se ha determinado que gracias a la incorporación de ácidos clorogénicos posee actividad antioxidante. Además, se ha determinado que existe aproximadamente un 7% de ácidos clorogénicos en el grano verde y después del tostado únicamente quedan 0.2%. Esto no significa que se pierdan, simplemente se transforman en melanoidinas, en aroma, en polifenoles y en el sabor dándole la amargura característica al café.

Otro de los análisis realizados fue la determinación de polifenoles presentes en cada una de las muestras de café y se utilizó el método de Folin-Ciocalteu. Este reactivo funciona para la determinación de antioxidantes fenólicos y funciona al medir la cantidad de sustancia analizada que se va a necesitar para inhibir la oxidación del reactivo. Según el Cuadro 3, se puede observar que el café que posee mayor cantidad de polifenoles es el de la región de Fraijanes, seguido por Cobán, Acatenango, Atitlán, Nuevo Oriente, San Marcos, Huehuetenango y por último Antigua. Cabe destacar que Antigua fue el café que obtuvo mayor cantidad de cafeína y de ácidos clorogénicos mientras que en su concentración de polifenoles obtuvo el menor porcentaje. Se ha establecido que los compuestos fenólicos están presentes en el grano verde, pero después de su tostado se pueden degradar y enlazarse a otras estructuras poliméricas dependiendo de las condiciones del mismo. Algunos polifenoles



Foto 1. Laboratorio sensorial UVG



Foto 2. Prueba sensorial

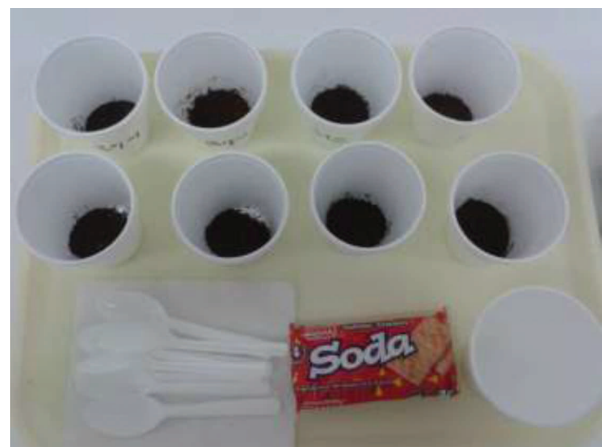


Foto 3. Muestras para panel sensorial

Cuadro 2. Concentración de cafeína y ácidos clorogénicos

No.	Región	Cafeína % (p/p) (\pm de)	Ácidos clorogénicos % (p/p) (\pm de)
1	Huehuetenango	1.22 \pm 0.06	3.29 \pm 0.16
2	San Marcos	1.27 \pm 0.01	3.12 \pm 0.01
3	Fraijanes	1.38 \pm 0.01	2.89 \pm 0.02
4	Nuevo Oriente	1.33 \pm 0.01	3.46 \pm 0.02
5	Atitlán	1.29 \pm 0.02	2.92 \pm 0.06
6	Acatenango	1.33 \pm 0.004	3.10 \pm 0.06
7	Cobán	1.17 \pm 0.01	3.72 \pm 0.22
8	Antigua	1.41 \pm 0.01	4.07 \pm 0.009

Mayor, Menor

Cuadro 3. Concentración de polifenoles y capacidad antioxidante

No.	Región	Polifenoles % (p/p) (\pm sd)	Capacidad antioxidante IC50 (μ g/ml) (\pm sd)
1	Huehuetenango	14.14 \pm 1.87	215.54 \pm 0.001
2	San Marcos	14.92 \pm 3.04	229.75 \pm 0.001
3	Fraijanes	17.46 \pm 0.21	317.63 \pm 0.001
4	Nuevo Oriente	15.74 \pm 1.46	248.94 \pm 0.001
5	Atitlán	16.00 \pm 0.68	222.98 \pm 0.001
6	Acatenango	16.39 \pm 0.98	191.34 \pm 0.001
7	Cobán	16.69 \pm 0.70	159.60 \pm 0.001
8	Antigua	8.59 \pm 1.85	224.90 \pm 0.001

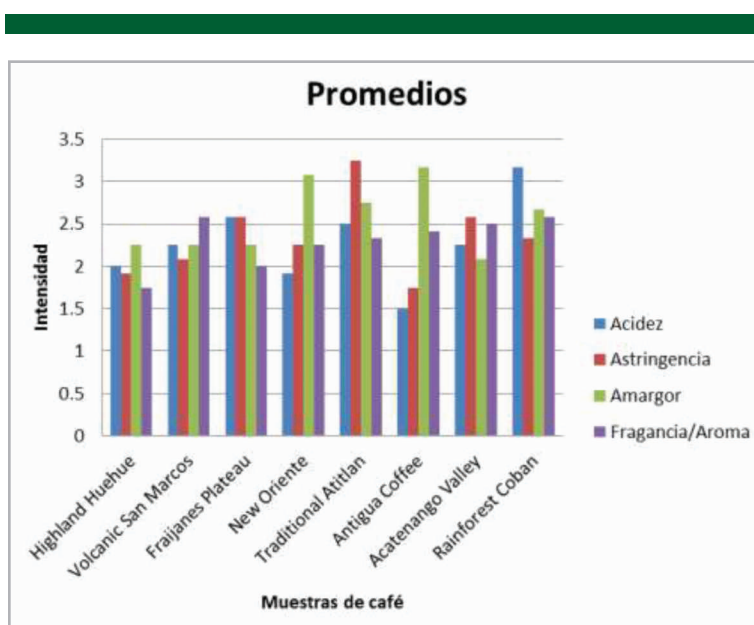
Mayor, Menor

se pueden convertir en cafeína, ácidos clorogénicos, antioxidantes, etc, pero aún no se ha podido determinar el porcentaje de cada uno.

Para el análisis de la capacidad antioxidante, se utilizó el reactivo de DPPH el cual es un radical libre que presenta una coloración morada intensa y al momento de reaccionar con el café va disminuyendo la tonalidad del mismo llegando hasta un color amarillento. Estos resultados se presentan como un valor de IC50 en unidades de μ g/ml, y significa la cantidad de café que reduce la absorbancia de la solución DPPH en un 50%. Por lo tanto, mientras más bajo sea el valor de IC50, mayor será su capacidad antioxidante. Según el Cuadro 3, se pudo encontrar que la región Cobán posee mayor capacidad antioxidante, seguido por Acatenango, Huehuetenango, Atitlán, Antigua,

San Marcos, Nuevo Oriente y por último Fraijanes. Se puede notar que Fraijanes posee la mayor cantidad de polifenoles disponibles, pero es probable que su capacidad antioxidante no sea tan potente como el resto de las muestras.

Para el análisis sensorial tenemos varias categorías, acidez, astringencia, amargor y fragancia/aroma. Estas características del café se evaluaron con un panel conformado por 6 personas previamente seleccionadas por su capacidad sensorial. Se realizaron varias sesiones durante el estudio y se tabularon los resultados en la Gráfica 1 donde podemos observar que la acidez se notó más en el café de Cobán, la astringencia predominó en el de Atitlán, el amargor fue muy similar entre Antigua y Nuevo Oriente, predominando en Antigua. Y por último fragancia/aroma gustaron más Cobán y San Marcos.



Gráfica 1. Promedio características de catación.

Conclusiones

- Se logró identificar y evaluar la capacidad antioxidante, contenido de cafeína y ácido clorogénico en las diferentes preparaciones analizadas.
- Se logró definir la calidad del café proveniente de las 8 zonas productoras de café clasificadas por Anacafé, conociendo los diferentes valores analíticos cuantificados generando una base de datos para estas regiones.
- Se evaluó las ocho muestras de café simultáneamente por ensayos de catación organoléptica determinando los índices máximos de acidez en Rainforest Cobán, astringencia en Traditional Atitlán, amargor en Antigua Coffee y la fragancia/aroma con Volcanic San Marcos.
- Se determinó por evaluación en espectroscopia visible, la capacidad antioxidante de las muestras evaluadas encontrándose que la que tiene un mayor valor fue Rainforest Cobán y con una menor capacidad Fraijanes Plateau.
- Se encontraron diferencias entre los contenidos de cafeína, ácido clorogénico y actividad antioxidante entre las diferentes regiones y entre las diferentes técnicas de preparar la infusión de café. Siendo estas diferencias, en el café hervido mayor concentración de cafeína y ácidos clorogénicos en el café de Fraijanes y menor para Nuevo Oriente; los polifenoles mayor concentración para Atitlán y menor en Antigua. En el caso de café de percoladora, la mayor concentración de cafeína y ácidos clorogénicos se encontró en Antigua, mientras que cafeína fue menor en Cobán y ácidos clorogénicos en Atitlán. Para los polifenoles mayor concentración en Cobán y menor en Atitlán. Y finalmente el café expreso, la mayor concentración de cafeína se encontró en Fraijanes y la menor en Cobán. Ácidos clorogénicos mayor concentración en Cobán y menor en San Marcos, Polifenoles mayor en Cobán y menor en San Marcos fue mayor en las regiones Antigua, Acatenango y Atitlán y menor en Cobán.
- Fue posible establecer relaciones lineales entre algunos atributos sensoriales de la bebida y el contenido de compuestos químicos. Se observó que hay cierta correlación entre variables químicas y organolépticas en el café expreso y el café hervido, siendo estas Amargo/Acidez con Ácido clorogénico, Amargo y Antioxidantes, Astringencia y Ácido clorogénico.
- Los resultados del trabajo permiten tener una mejor apreciación de la calidad del café regional y la existencia de su variabilidad. Así mismo correlaciona propiedades químicas con apreciaciones de la bebida por parte de los consumidores.

Agradecimiento

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYT) por el financiamiento parcial del proyecto FODECYT 039-2011 administrado por la Secretaría de Ciencia y Tecnología (SENACYT). También, agradecemos el apoyo del centro de investigaciones de café, de la Asociación Nacional del Café (ANACAFE) por medio de su director, Dr. Francisco Anzueto.

Bibliografía

- ANACAFE, Los cafés de Guatemala.
https://www.anacafe.org/glifos/index.php/BuenCafe_CafesdeGuatemala.
Fecha de consulta 14 Junio 2015.
- Czerny M., Mayer F., Grosch W. (1999) *Sensory Study on the Character Impact Odorants of Roasted Arabica Coffee* J. Agric. Food Chem. 47: 695-699.
- Mayo Clinic, *Caffeine content for coffee, tea, soda and more*
<http://www.mayoclinic.org/healthy-lifestyle/nutrition-and-healthy-eating/in-depth/caffeine/art-20049372>. Fecha de consulta Mayo 2015.
- Pérez-Jiménez J., Saura-Calixto F. (2007) *Metodología para la evaluación de capacidad antioxidante en frutas y hortalizas* V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones: 1150-1160.
- SCAA (Specialty Coffee Association of America) (2009) *SCAA Protocols, Cupping Specialty Coffee*. USA.
- Sammelroch P., Grosch W. (1996) *Studies on character impact odorants of coffee brews* J. Agric. Food Chem. 44: 537-543.

Anexo 1

Preparación de solución de DPPH

Se preparó la solución pesando 0.0056g de DPPH 50_m marca Sigma-Aldrich a un balón volumétrico de 25 ml protegido de la luz y se aforó.

Preparación de muestras

Se preparó una solución de agua-metanol 30:70 y se tomó 50ml de esta solución y se mezcló con 10ml de cada una de los extractos de café. Se agitó con un agitador magnético a temperatura ambiente durante una hora. Se filtró con filtros Whatman #4 y se almacenó en refrigeración en envases plásticos. Para el análisis se utilizó 10 tubos por cada extracto de café y se realizó diluciones según el Cuadro 3. Se utilizó como blanco metanol puro (el mismo utilizado para la preparación de las muestras).

Cuadro 3. Preparación de las diluciones para cada muestra de café

No. de tubo	Dilución de la muestra (ml)	Volumen de Metanol (ml)	Volumen de DPPH (ml)
1	0.2	2.8	1.0
2	0.4	2.6	1.0
3	0.6	2.4	1.0
4	0.8	2.2	1.0
5	1.0	2.0	1.0
6	1.2	1.8	1.0
7	1.4	1.6	1.0
8	1.6	1.4	1.0
9	1.8	1.2	1.0
10	2.0	1.0	1.0

Se prepararon 10 tubos por cada uno de los extractos de café utilizando las diluciones según el Cuadro 3. Se colocó los 10 tubos en una gradilla. Se agitó cada uno por 15 segundos en un vortex y así se obtuvo una mezcla homogénea. Luego de eso, se midió la absorbancia de cada tubo en un espectrofotómetro UV a una longitud de onda de 517 nm, utilizando como blanco al metanol puro. Después de la lectura, se almacenó cada tubo en un lugar oscuro durante 30 min.

Luego de los 30 min, se volvió a repetir la lectura de absorbancia con agitación Vortex por 15 segundos. Se obtuvo la determinación la capacidad antioxidante por medio de la ecuación 1 para obtener el porcentaje de pérdida de absorbancia. Se obtuvo la gráfica de los datos y de ella la ecuación de la recta para la determinación del valor para IC50.

$$\% \text{ Reducción} = \frac{\text{abs DPPH} - \text{abs Muestra}}{\text{abs DPPH}} * 100$$

Anexo 2

Boleta de evaluación de perfil sensorial

Perfil Sensorial de Café

Instrucciones:

Se le van a presentar dos muestras, A y B. Califique la muestra A con bolígrafo Rojo y la B con bolígrafo negro, tratando de determinar si hay diferencias entre las muestras.

Atributos del Perfil:

Acidez

Menos ácido _____ Más ácido

Astringencia

Menos astringente _____ Más Astringente

Aroma

Débil _____ Profundo

Cuerpo

Menor _____ Mayor

Color

Menos oscuro _____ Más oscuro

Sabor Amargo

Menos amargo _____ Más amargo

Sabor quemado

Menos sabor a quemado _____ Más sabor a quemado

Balance

No Equilibrado _____ Equilibrado

Perdurabilidad

No Permanece _____ Permanece

Sabor a nuez

No tiene _____ Se percibe

Otros sabores que perciba:

Fuente: Departamento de Alimentos UVG, 2011