

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ingeniería



DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS
FISICOQUÍMICAS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN CAFÉ
DE LAS DIFERENTES REGIONES DE GUATEMALA

Trabajo de graduación presentado por
Melanie Marie Salguero Mendizábal
para optar al grado académico de
Licenciada en Ingeniería en Ciencias de los Alimentos

Guatemala
2013

**DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS
FISICOQUÍMICAS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE
EN CAFÉ DE LAS DIFERENTES REGIONES DE
GUATEMALA**

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ingeniería



DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS
FISICOQUÍMICAS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN CAFÉ
DE LAS DIFERENTES REGIONES DE GUATEMALA

Trabajo de graduación presentado por
Melanie Marie Salguero Mendizábal
para optar al grado académico de
Licenciada en Ingeniería en Ciencias de los Alimentos

Guatemala

2013

Vo. Bo:

(f) Ana Silvia Colmenares de Ruiz

Licenciada Ana Silvia Colmenares de Ruiz

Tribunal:

(f) Ana Silvia Colmenares de Ruiz

Licenciada Ana Silvia Colmenares de Ruiz

(f) Patricia Palacios de Palomo

Licenciada Patricia Palacios de Palomo

(f) Ana Luisa Mendizábal de Montenegro

Licenciada Ana Luisa Mendizábal de Montenegro

Fecha de aprobación: Guatemala 02 de diciembre del 2013

ÍNDICE

LISTA DE CUADROS	ii
LISTA DE FIGURAS	iv
LISTA DE IMÁGENES	vi
RESUMEN	vii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	2
A. Tendencias del café en el mundo	2
B. Clasificación del café de Guatemala	4
C. Proceso del café en Guatemala	7
D. Cafeína	9
E. Ácidos clorogénicos	10
F. Capacidad antioxidante	12
III. MARCO TEÓRICO	15
A. Cafeína	15
B. Compuestos fenólicos (Polifenoles).....	16
C. Ácidos clorogénicos	17
D. Capacidad antioxidante	19
E. pH.....	21
F. Color.....	21
G. HPLC	23
H. Reacción de Maillard.....	27
I. DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil).....	30
IV. JUSTIFICACIÓN	32
V. OBJETIVOS	34
VI. MATERIALES Y MÉTODOS	35

A.	Muestras de café.....	35
B.	Preparación de las muestras de café	35
C.	Determinación de cafeína y ácidos clorogénicos.....	35
D.	Determinación de capacidad antioxidante por método de DPPH.....	36
E.	Determinación de polifenoles.....	38
F.	Determinación de pH y colorimetría	40
VII.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
VIII.	CONCLUSIONES.....	46
IX.	RECOMENDACIONES.....	48
X.	BIBLIOGRAFÍA	49
XI.	APÉNDICE	53

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1 Composición media del café verde, el café tostado y la infusión (porcentaje de materia seca)	8
Cuadro 2 Preparación de las diluciones para cada muestra filtrada de café	37
Cuadro 3 Preparación de diluciones para determinación de Polifenoles	39
Cuadro 4 Preparación de las muestras	39
Cuadro 5 Resultados de cafeína y ácidos clorogénicos para las 8 muestras de café.....	42
Cuadro 6 Resultados de polifenoles y capacidad antioxidante para las 8 muestras de café	43
Cuadro 7 Resultados de pH para las 8 muestras de café.....	43
Cuadro 8 Resultado de colorimetría para las 8 muestras de café.....	44
Cuadro 9 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región Highland Huehue a	55
Cuadro 10 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región Highland Huehue b	56
Cuadro 11 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región San Marcos a.....	57
Cuadro 12 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región San Marcos b	58
Cuadro 13 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región Fraijanes Plateau a	59
Cuadro 14 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región Fraijanes Plateau b	60
Cuadro 15 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región New Oriente a	61
Cuadro 16 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región New Oriente b	62
Cuadro 17 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región Traditional Atitlán a.....	63
Cuadro 18 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región Traditional Atitlán b.....	64
Cuadro 19 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región Acatenango a.....	65
Cuadro 20 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región Acatenango b	66

Cuadro 21 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región Rainforest Cobán a.....	67
Cuadro 22 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región Rainforest Cobán b	68
Cuadro 23 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región Antigua a.....	69
Cuadro 24 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región Antigua b.....	70
Cuadro 25 Características de origen de las muestras	71

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Estructuras de los ácidos clorogénicos en muestras de café.....	18
Figura 2 Mecanismo de los radicales libres	20
Figura 3 Forma en que interfieren los antioxidantes en el proceso de los radicales libres	20
Figura 4 Arreglo de colores en un círculo de matiz.....	22
Figura 5 Arreglo de colores en una superficie de matiz y de saturación	23
Figura 6 Las tres dimensiones de los colores opuestos en el espacio	23
Figura 7 . Componentes básicos de un cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia.....	25
Figura 8 Reacción de Maillard.....	29
Figura 9 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región Highland Huehue a	55
Figura 10 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región Highland Huehue b	56
Figura 11 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región San Marcos a.....	57
Figura 12 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región San Marcos b	58
Figura 13 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región Fraijanes Plateau a	59
Figura 14 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región Fraijanes Plateau b	60
Figura 15 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región New Oriente a	61
Figura 16 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región New Oriente b	62
Figura 17 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región Traditional Atitlán a.....	63
Figura 18 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región Traditional Atitlán b.....	64
Figura 19 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región Acatenango a.....	65
Figura 20 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región Acatenango b	66
Figura 21 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región Rainforest Cobán a.....	67
Figura 22 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región Rainforest Cobán b	68

Figura 23 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región Antigua a.....	69
Figura 24 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región Antigua b.....	70

LISTA DE IMÁGENES

Imagen1 Curva de calibración obtenida a partir del método de cromatografía HPLC para la cafeína.....	53
Imagen2 Curva de calibración obtenida a partir del método de cromatografía HPLC para los ácidos clorogénicos.....	53
Imagen3 Curva de calibración por el método de absorbancia para polifenoles.....	54
Imagen4 Análisis de color a partir del método de colorimetría para las 8 muestras de café en duplicado.....	54

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar el contenido de cafeína, ácidos clorogénicos, polifenoles, capacidad antioxidante, pH y color que poseen los distintos cafés de las ocho regiones establecidas de Guatemala por ANACAFÉ (Asociación Nacional del Café). Para el análisis de cafeína y ácidos clorogénicos se utilizó el método de cromatografía líquida, luego se determinó la capacidad antioxidante y los polifenoles a través de su absorbancia en la región UV visible utilizando el método de DPPH y el método de Folin-Ciocalteu respectivamente. Por último se analizó el pH y el color de las muestras por el método de colorimetría.

Se encontró que el café de la región Antigua Coffee posee mayor cantidad de cafeína así como de ácidos clorogénicos, y a su vez fue el que menor cantidad de polifenoles presentó. Mientras que la región de Rainforest Cobán y Traditional Atitlán presentaron los valores más bajos de cafeína y ácidos clorogénicos, respectivamente. Para la concentración de polifenoles, se observó que la región con mayor cantidad fue Fraijanes Plateau. En cuanto a la capacidad antioxidante, la región de Rainforest Cobán fue la que presentó la mayor capacidad mientras que la región de Fraijanes Plateau obtuvo el valor más bajo. El valor de pH para todas las regiones se encontró entre los valores de 5.52 y 5.69, y que todas las muestras presentaron un color de tonalidad amarilla.

I. INTRODUCCIÓN

El café es considerado una de las bebidas más consumidas en el mundo, y de acuerdo a la NCA (Asociación de Café Nacional de Estados Unidos) muchos consumidores consideran el café como parte integral de sus vidas. Los adultos consumen aproximadamente 3 tazas al día. A nivel mundial, los consumidores de la bebida de café buscan los beneficios que ésta les puede dar aparte de su sabor y calidad, como por ejemplo los antioxidantes que ésta posee.

En el café de Guatemala se encuentra la especie Arábica, y ésta posee diferentes variedades, entre ellas el Catuaí, Caturra, Mundo Novo, etc. En Guatemala se producen cafés de alta calidad lo que lo convierte en un producto cotizado altamente en los mercados internacionales, entre ellos Japón y Estados Unidos. Algunas de las características radican en las diferentes altitudes que permiten el cultivo de cada café, los suelos que son ricos en minerales, la variedad de climas con patrones lluviosos que proveen de beneficios para el cultivo y son ricas fuentes de agua, entre otras.

La Asociación Nacional del Café (ANACAFÉ) ha establecido ocho diferentes regiones cafetaleras en Guatemala, siendo éstas: San Marcos, Nuevo Oriente, Huehuetenango, Fraijanes, Cobán, Antigua Guatemala, Atitlán y Acatenango. Es por ello que se decidió realizar el análisis de las propiedades del café de cada región, entre las cuales está la concentración de cafeína, ácidos clorogénicos, capacidad antioxidante, polifenoles, pH y color. A través del método de cromatografía líquida se pudo obtener las concentraciones de cafeína y ácidos clorogénicos. Para la obtención de los polifenoles y la capacidad antioxidante se realizó el método de absorbancia en la región visible y para la medición de pH y color se utilizó un potenciómetro así como un colorímetro.

II. ANTECEDENTES

A. Tendencias del café en el mundo

La NCA (The National Coffee Association of USA) en su estudio de tendencias de consumo en Estados Unidos define el Café Gourmet como “Café tradicional-gourmet con el cual se realizan bebidas a base de espresso, entre las cuales se encuentran los tradicionales capuchinos, ice lates y mochas”. En un estudio publicado en 2011, es evidente cómo la categoría de café en general sigue en aumento, y el segmento de café especial o gourmet continúa evolucionando constantemente como respuesta al cambio de las expectativas y preferencias de los consumidores. A pesar de la crisis económica, los consumidores aún demandan productos de calidad y mantienen su consumo de bebidas como el café. De igual manera, las tiendas de café especializadas y el aumento de las comunidades de baristas siguen marcando las pautas de tendencia en el consumo, en el cual indican que las bebidas a base de espresso son las más representativas en los sub-tipos de productos gourmet. También se ha determinado que un 80% de los consumidores dice no haber modificado su consumo de café debido a su situación financiera, mientras que el otro 20% cambió su hábito a consumo fuera de casa por “en casa”. Esto demuestra que la demanda de café de mayor calidad para consumo en el hogar también está aumentando. (NCA, 2011)

Las estadísticas indican que en países como Estados Unidos, los ciudadanos consumen un 25% del café mundial. También, 65% de los consumidores toman café en horas del desayuno y de estos mismos, el 35% prefiere el café negro. Anualmente, las importaciones en los Estados Unidos sobrepasan los \$4 billones y la demanda sigue creciendo con franquicias como *Starbucks* y *Folgers*. El café es considerado la bebida más consumida en muchas partes del mundo. De acuerdo a la Asociación de Café Nacional (NCA), muchos consumidores consideran el café como parte integral de sus vidas. En el 2007, la NCA reveló que el consumo de café superó el consumo de bebidas gaseosas. En este mismo año, el 7% de los adultos consumían café gourmet como parte de su dieta básica. El alza fue atribuida al aumento en el consumo de café en adultos entre los 25-59 años quienes representaban un 19% de los bebedores de café gourmet. En el siguiente año, 2008,

el consumo de café incrementó drásticamente. Adultos entre las edades de 18-24 años consumían un promedio de 3.2 tazas de café por día, en comparación con el 2.5 que se había registrado en el 2005. (Coffee trends, 2011)

La NCA proyecta un aumento en el consumo del café. Cada vez más consumidores están conscientes de la variedad de cafés y marcas que existen en el mercado. Pero más que nada, los consumidores están mostrando un apetito mayor por café de mejor calidad. Aunque el café ordinario representa un gran porcentaje de ventas, los cafés saborizados como con vainilla, caramelo, avellana y chocolate representan entre 20-30% de las ventas en los Estados Unidos. (Coffee trends, 2011)

1. Panorama mundial. El 2008 reportó importaciones mundiales de café por más de 21 billones de dólares, siendo los principales países importadores Estados Unidos (20%), Alemania (16%), Francia, Italia y Japón con 6% cada uno. El otro 46% corresponde al resto de países. Estos cinco países mencionados importaron más de \$630 millones por concepto de café guatemalteco, siendo Guatemala un importante proveedor para Estados Unidos y Japón. Guatemala cubrió el 10% del total de las importaciones totales del café en Japón y el 9% para Estados Unidos. (MINECO, 2008)

Colombia y Brasil son dos fuertes proveedores del café, para lo cual Brasil cubre el 22% de las importaciones, Colombia el 12% y Guatemala el 5%. (MINECO, 2008)

Estados Unidos es sin duda el principal mercado para el café guatemalteco, lo cual representa un crecimiento del 151% del 2002 al 2008, siendo un crecimiento de USD 120 millones a USD 301 millones exportados a este mercado. Europa permanece como un mercado importante para el café guatemalteco. (MINECO, 2008)

A pesar que Guatemala ha hecho intentos de desarrollar una agroindustria de tostaduras, solamente USD 250,000 fueron exportados en presentación tostado y molido en el 2008. Esto se debe a que el café de Guatemala es considerado como uno de los mejores del mundo por su calidad, más no por su proceso industrializado como tostado y/o molido. En Guatemala existen 20 exportadores de café, y han realizado alianzas

estratégicas con dispensadores finales como lo son: Illy, McDonald's, Dunkin Donuts y Starbucks. (MINECO, 2008)

B. Clasificación del café de Guatemala

En Guatemala se encuentra café desde la costa hasta tierra fría, más no todas las variedades se adaptan a las diferentes condiciones. Por ejemplo, el Catauí, Caturra y Pache se comportan adecuadamente en zonas bajas y medianas, mientras que el Bourbon y Mundo Nuevo responden mejor en zonas altas. También, el Typica se encuentra en las diferentes zonas conservando su producción bianual característica. De cualquier forma, la respuesta del café a diferentes alturas y otras condiciones depende del manejo adecuado que se dé a las plantaciones. (García, 2010)

La presencia de árboles como sombra es conocida por mejorar el contenido de materia orgánica de la tierra, contrarrestar la alta irradiación solar, amortiguar los cambios nocturnos perjudiciales en la temperatura del aire y la humedad y reduce el lavado de nutrientes, especialmente el nitrato que contamina los acuíferos. Estudios recientes en Guatemala han demostrado que la elevación de la tierra y la sombra mejoran la calidad del café debido a condiciones climáticas más frescas y probablemente un período más largo de maduración de las bayas del café. (Vaast, 2006)

1. Tipos de café. El café de Guatemala se encuentra entre la especie arábica, ya que la especie Robusta está más difundida en países africanos y en Guatemala hay muy pocas plantaciones de este género. El contenido de cafeína en esta especie Arábica está entre 0.9% y 1.5%, siendo relativamente baja. Entre las variedades comerciales se encuentran, en orden descendente de productividad: Catauí, Caturra, Mundo Novo, Bourbón, Pache, Typica y Maragogype. (García, 2010)

2. Principales regiones de Guatemala. En Guatemala se producen cafés de alta calidad lo que lo convierte en un producto cotizado altamente en los mercados internacionales. La calidad de este café comienza desde su origen. Algunas de las características radican en las diferentes altitudes que permiten el cultivo de cada café, los suelos que son ricos en minerales, la variedad de climas con patrones lluviosos que proveen de beneficios para el

cultivo del café, ricas fuentes de agua entre otras características que convierten al café de Guatemala en uno de los mejores del mundo. (ANACAFÉ, 2011)

La asociación de ANACAFÉ realiza la promoción de los cafés de Guatemala ubicándolos en 8 regiones distintas, siendo así las siguientes:

- San Marcos
- Nuevo Oriente
- Huehuetenango
- Fraijanes
- Cobán
- Atitlán
- Antigua
- Acatenango

Los cafés de Guatemala poseen una combinación de sabores balanceados para lo cual se desarrollan específicamente aromas, acidez, cuerpo y dulzura. Es por ello que ANACAFÉ decidió agrupar los cafés de cada una de las regiones de Guatemala para analizar individualmente sus características y propiedades. (ANACAFÉ, 2011)

a. San Marcos. Las variedades producidas en esta región son: Bourbon, Caturra y Catuaí. Se cultivan en clima cálido, suelos ricos en minerales y lluvias constantes a una altitud de 1300-1800 metros sobre el nivel del mar, en pequeñas unidades productoras que a su vez cuentan con su propio beneficio. . En el sabor de este café se pueden detectar notas florales en su aroma y sabor así como también una acidez pronunciada y buen cuerpo. (ANACAFÉ, 2011)

b. Oriente. Las variedades producidas en esta región son: Bourbon, Caturra, Catuaí y Pache. Se cultivan en clima lluvioso y nublado, con suelos balanceados en minerales en donde los caficultores aprovecharon la antigua cadena volcánica para convertir cada parcela de la montaña en una unidad de producción. La altitud de este lugar es de 1300-1700 metros. El sabor es chocolatado y posee mucho cuerpo. (ANACAFÉ, 2011)

c. Huehuetenango. Las variedades producidas en esta región son: Bourbon, Caturra y Catuaí. Esta es de las regiones más altas y secas que no posee volcanes. El café es cultivado en las montañas con climas áridos y secos que ayudan a proteger las cosechas de las heladas. La altitud es de 2000 metros sobre el nivel del mar. El sabor de este café es intenso, con una acidez fina y cuerpo lleno con toques avinados. (ANACAFÉ, 2011)

d. Fraijanes. Las variedades producidas en esta región son: Bourbon, Caturra, Pache y Catuaí. Se cultiva en una llanura montañosa cuyo clima es húmedo y lluvioso además de tener un rango de temperaturas. La altitud para la cosecha es de 1400-1700 metros sobre el nivel del mar. El sabor posee una acidez pronunciada, aromático y posee cuerpo definido. (ANACAFÉ, 2011)

e. Cobán. Las variedades producidas en esta región son: Bourbon, Maragogype, Caturra, Pache y Catuaí. Se cultiva en clima lluvioso y frío todo el año con altos niveles de nubosidad. Los suelos se caracterizan por ser arcillosos y poseer piedra caliza además de recibir la influencia tropical de la Cuenca del Atlántico. La altitud se encuentra entre 1300-1500 metros sobre el nivel del mar. El sabor de este café es particularmente a frutas, con un aroma agradable, cuerpo fino y muy bien balanceado. (ANACAFÉ, 2011)

f. Atitlán. Las variedades producidas en esta región son: Bourbon, Typica, Caturra y Catuaí. El suelo en donde se cultiva es rico en materia orgánica, además de poseer muchos minerales y tener un clima soleado. Las altitudes superan los 1500 metros y se cultiva aproximadamente el 90% del café que se produce en la región. Los caficultores de esta área aún conservan las técnicas tradicionales para el cultivo y procesamiento del grano. El sabor es ácido cítrico, aromático y posee mucho cuerpo. (ANACAFÉ, 2011)

g. Antigua. Las variedades producidas en esta región son: Bourbon, Caturra y Catuaí. El suelo para su cultivo es rico en minerales, con bajos niveles de humedad y posee un suelo volcánico con altas cantidades de piedra pómez. El clima es bastante soleado y de noche se torna frío con una densa sombra que ayuda a proteger las plantaciones de las heladas. El sabor es particularmente dulce, elegante, posee un exquisito aroma y está muy bien balanceado. La altitud es sobre los 1500m a nivel del mar. (ANACAFÉ, 2011)

h. Acatenango. Las variedades producidas en esta región son: Bourbon, Caturra y Catuaí. El grano se cosecha en la sombra, con suelos ricos en minerales. El secado se realiza al sol y luego el grano se procesa siguiendo las antiguas tradiciones familiares. La altitud de este lugar es de 2000 metros sobre el nivel del mar. El sabor posee una acidez marcada, aroma fragante, cuerpo limpio y balanceado y un postgusto que se mantiene. (ANACAFÉ, 2011)

C. Proceso del café en Guatemala

El café es una de las bebidas más populares en el mundo dado a su aroma único, sabor y los efectos estimulantes de su contenido de cafeína. La calidad del café se ve afectada por varios parámetros. Dependiendo de la especie (Arábica, Robusta o Libérica) y el método utilizado para procesar los granos (húmedo vrs seco), la calidad y la composición química puede variar considerablemente. Por mucho, el café Arábica tiene perfiles de sabor más pronunciados y finos que son considerados de mejor calidad y, por consiguiente, demandan un precio más alto que el café Robusta o Libérica. La composición de la tierra y su fertilización, la altitud y el clima de la plantación, y los métodos finales de cultivo y secado utilizados afectarán la calidad del grano verde. El tostado, el paso final del proceso previo a su molienda y preparación, determina las propiedades organolépticas de la bebida del café. Durante el proceso del tostado, las reacciones que ocurren en el grano del café son complejas y altamente dependientes en el tiempo, así como del perfil de la temperatura utilizada. (Wang, 2011)

El café de Guatemala se siembra en planicies y áreas quebradas, a diferentes altitudes. El mejor café se considera que crece en el suelo de origen volcánico, a 1000 y 1500m sobre el nivel del mar. (González, 2008). La recolección es la etapa más difícil y se inicia cuando la cáscara del futo se torna color rojizo muy semejante a una cereza. La calidad de la bebida depende mucho de este paso pues si durante su recolección fueron dañadas, lastimadas o se cortó la fruta inmadura va a afectar significativamente. El grano verde produce en la cáscara el sabor áspero mientras que el grano sobre madurado produce un sabor agrio o frutoso. En países como Guatemala, la cosecha puede variar dependiendo del clima y la altura del terreno, además la maduración del café no es uniforme por lo que se recoge entre

noviembre y abril en las tierras frías mientras que en zonas de clima cálido se recoge entre agosto y diciembre. (González, 2008)

1. El Beneficio. El beneficio del café consiste en una serie de procedimientos para liberar el café de las cuatro capas que lo recubren: la cáscara de cereza o pulpa, el mucílago que envuelve los dos granos, el pergamino y la película sedosa fina que protege el grano de oro. En este método se tratan los granos recién cosechados, pues debe despulparse el mismo día para evitar los efectos de recalentamiento y fermentación. Primero se elimina la pulpa, eliminando la piel a través de un despulpado sin romper el grano. Luego se lleva a cabo la fermentación, el lavado y por último el secado para alcanzar la humedad deseada, que puede estar entre 10-12% (González, 2008).

2. Tostado y molienda. El proceso de tostar café es uno de los pasos más importantes y que puede a su vez determinar la calidad final del café. Cada tipo de café debe ser tostado de acuerdo a sus características particulares pues de eso depende que se resalten o se anulen al momento de prepararlo y servirlo. Los tres factores importantes que se deben considerar durante el tostado son: Factor humano, ambiental y tecnológico. Se debe llevar un perfil de tueste que consiste en la Carga, o sea la temperatura del cilindro y del grano y la temperatura que bajó; el Dorado, que consiste en medir el tiempo, temperatura del cilindro y del grano; Primer Crack, siendo el momento en que el grano pierde su grado de humedad en su totalidad dependiendo del tiempo y temperatura; y el Final, en el cual se concluye el tostado y también se considera tiempo y temperatura (El Cafetal, 2011)

La composición química del grano sufre una importante transformación a nivel cuantitativo como el cualitativo. Azúcares, grasas, proteínas, sustancias nitrogenadas no protéicas, Antioxidantes, etc sufren de transformaciones debido a los procesos de alta temperatura a los que son sometidos. En este punto surgen los aromas y sabores característicos de cada café, además de que se debe desarrollar la característica física importante como lo es la solubilidad del café tostado y molido, para poder continuar a su infusión. (Solá, 2010)

Cuadro 1 Composición media del café verde, el café tostado y la infusión
(porcentaje de materia seca)

Componente	Coffea arabica		Coffea robusta		Infusión*
	Verde	Tostado	Verde	Tostado	
Cafeína	1,2	1,3	2,2	2,4	4,8
Trigonelina	1,0	1,0	0,7	0,7	1,6
Proteínas	9,8	7,5	9,5	7,5	6,0
Sacarosa	8,0	0,0	4,0	0,0	0,8
Otros azúcares	1,0	–	2,0	–	0,4
Polisacáridos	49,8	38,0	54,4	42,0	24,0
Ácidos	1,5	2,4	1,6	2,6	3,0
Ácido clorogénico y derivados	6,5	2,5	10,0	3,8	–
Lípidos	16,2	17,0	10,0	11,0	0,8
Minerales	4,2	4,5	4,4	4,7	14,0
Componentes aromáticos	Trazas	0,1	Trazas	0,1	–

* Café: *Coffea arabica*, tueste normal, preparado con 50 g/l.
Modificado de Astiasarán y Martínez, 1999, y de Belitz y Gresh, 1997.

(Gil, 2010)

D. Cafeína

La cafeína se encuentra en diferentes tipos de alimentos y bebidas que consumimos en la vida diaria. Esta causa varios efectos psicológicos como relajamiento del músculo bronquial, estimulación del sistema central nervioso y segregación de ácido gástrico. Y su concentración in vivo es una marca clave para varios desórdenes tales como ataques al corazón, carcinogénesis, mal funcionamiento del riñón y asma. Por el otro lado, el análisis químico de la cafeína en los granos del café es también usado como una herramienta útil para la evaluación de la calidad del café. Altos contenidos de cafeína se han reportado en los diferentes tipos de café. Varios métodos químicos y físicos han sido desarrollados para la determinación de cafeína en el café y en otras bebidas. El método mayormente utilizado para esta determinación incluye varias técnicas analíticas como el espectrofotómetro derivado HPLC, Transformación infrarrojo, NIR reflectancia espectral, espectroscopía Raman y Electroforesis capilar de los que han sido reportados. Aún cuando la Espectrofotómetro es el método más rápido y simple, no es posible determinar la cafeína directamente en los granos del café con la medida de absorción UV convencional debido al traslapo espectral. Por el contrario, el espectrofotómetro

derivativo es relativamente más fácil, sin embargo no es tan confiable para la determinación de pequeñas concentraciones de cafeína en muestras. Con los métodos de HPLC pueden ser muy útiles cuando se cuenta con el equipo adecuado. Otros métodos como el infrarrojo FT, Raman y NIR son igualmente versátiles para la medición de cafeína y no requieren de reactivos de alto costo. (Belay, 2007)

En varios estudios se menciona que existe una variedad de investigaciones relacionadas con los problemas a la salud que provoca el consumo de la cafeína. De igual manera hay una gran falta de evidencia concluyente, por lo que la cafeína sigue siendo reconocida como segura según la FDA (US Food and Drug Administration). Los autores sugieren que parte de estos descubrimientos inconclusos radican en la forma en que realizan los estudios. Frecuentemente, estos estudios comparan la cafeína de igual manera que en una taza de café. Schreiber, *et al* (1998) discute que el error es estimar el consumo de cafeína utilizando la cantidad de café consumido, citando que la técnica de preparación del café es un factor que influye en la cantidad de cafeína que puede poseer la bebida. Estudios que demuestran la influencia de los métodos de preparación del café en su contenido de cafeína son escasos. Es por ello que el autor recomienda realizar más estudios en los que se analice la cafeína separándola del café y tomando en cuenta el método de preparación que se llevó a cabo. (Bell, 1997)

E. Ácidos clorogénicos

El café contiene ácidos clorogénicos con valores que varían entre granos verdes y tostados. El café en grano verde contiene la mayor cantidad de ácidos clorogénicos encontrados en plantas, entre un rango de 6%-12%. Adicionalmente, las lactonas de los ácidos clorogénicos, las cuales se forman durante el proceso de tostado por la pérdida del agua y la formación del enlace éster intramolecular, ha recibido una atención especial debido a los efectos potenciales en las funciones independientes del cerebro por el efecto farmacológico de la cafeína. (Farah, 2005)

Los ácidos clorogénicos son metabolitos secundarios de gran interés económico en el café debido a su degradación en compuestos fenólicos cuando sucede el tostado de los granos, responsable de la amargura característica del café. Los subgrupos mayores de ácidos clorogénicos son los ésteres de ácido quínico con el ácido caféico (ácidos

cafeoilquínicos) y los ácidos dicafeoilquínicos o con los ácidos ferúlicos (ácidos feruloilquínicos) que representan el 98% de todos los ácidos clorogénicos. Los ácidos clorogénicos forman un complejo con la cafeína en una relación molecular de 1:1. Pueden unirse con otros alcaloides de purina, como la paraxantina, teofilina, teobromina o teacrina. Los complejos son también formados pero a un ritmo menor, con precursores de ácidos clorogénicos como los ácidos quínicos o caféico. Todas estas combinaciones de compuestos pueden explicar la correlación cercana observada entre el contenido de cafeína y ácidos clorogénicos con el subgénero del café. (Campa, 2004)

Los ácidos clorogénicos son compuestos fenólicos solubles en agua. El subgrupo de los isómeros más importante de estos en el café son los ácidos cafeoilquínicos, ácidos feruloilquínicos, dicafeoilquínicos y, en pequeñas cantidades, el ácido p-cumaroilquínicos. Son responsables del 4-12% de la composición de materia seca del café. Durante el tostado del café, como resultado de las reacciones de Maillard y Strecker, la amargura aumenta debido al liberamiento de ácidos caféicos y la formación de lactonas y otros derivados fenólicos responsables del sabor y el aroma. Los ácidos clorogénicos y sus lactonas no solo contribuyen al sabor del café sino también pueden ser de importante potencial de la biofarmacología en los humanos. El mayor estudio de la actividad de biofarmacología de los compuestos fenólicos como los ácidos clorogénicos ha sido relacionado con sus propiedades antioxidantes, pues se considera que poseen efectos positivos en enfermedades degenerativas, enfermedades cardiovasculares y cáncer. Últimamente, los ácidos clorogénicos han recibido una atención especial debido a su habilidad de aumentar el uso hepático de la glucosa. (Farah, 2006)

Muchos ácidos clorogénicos están presentes en los granos de café, y el más abundante es el 5-cafeoilquínico. Los granos verdes de café Arábica contienen alrededor de 7% de ácidos clorogénicos, pero este nivel decrece drásticamente después del tostado hasta niveles tan bajos como de 0.2% para granos de café tostado oscuro. La causa de por qué se da esta desaparición de ácidos clorogénicos aún no se ha encontrado. Se ha sugerido que parte de estos ácidos se convierten en compuestos de sabor después del tostado mientras que otra parte se incorpora en las melanoidinas de la preparación del café. (Bekedam, 2008)

Se conoce que los ácidos clorogénicos son abundantes en las planta, pero en los granos de café es extraordinariamente mayor. El café contiene hasta siete ácidos amino-cinamoil conjugados. Se han hecho varios estudios sobre la transformación de ácidos clorogénicos durante el tostado del café, y está bien fundamentado que son progresivamente destruidos con un aumento severo durante el mismo, pero aún los granos más tostados retienen una cantidad significativa. Para las personas que consumen las bebidas de café regularmente, ya sea preparadas de polvos solubles (instantáneos) o recién molidos, el café es casi seguro su mayor fuente de ácidos clorogénicos en la dieta, siendo su consumo fácilmente de una dosis de 500 mg diaria. Debido a una evidencia creciente que una dieta rica en fenoles y polifenoles puede tener beneficios potenciales para la salud de los consumidores, los suplementos nutricionales y las industrias de alimentos ha desarrollado numerosos productos que ofrecen productos con contenido fenólico incrementado. Algunos extractos genéricos solubles del café verde están disponibles para su uso en suplementos encapsulados en bebidas listas para consumir o en productos de café solubles para realzar el contenido de ácidos clorogénicos. (Mullen, 2011)

F. Capacidad antioxidante

Muchos estudios del café asociados con la salud humana se han enfocado en los aspectos negativos, como su toxicidad en la cafeína. Debido a que el café ha sido consumido por muchas décadas, se ha encontrado que también posee algunos efectos antioxidantes en la salud humana. Los antioxidantes son conocidos por prevenir algunas enfermedades como el cáncer, aterosclerosis, y el envejecimiento de las células. Los compuestos antioxidantes se han reportado muchas veces en la literatura en las bebidas tales como el café. La formación de estos antioxidantes en bebidas y alimentos esta mayormente relacionada con las reacciones de Maillard. Substancias de alto peso molecular, tales como melanoidinas producidas por aminoácidos o azúcares durante Maillard, inhibe significativamente la oxidación de los lípidos. Las melanoidinas del café exhiben gran cantidad de actividad antioxidante, pero se ven sobrepasadas por el bajo peso molecular de los ácidos fenolcarbónicos. (Yanagimoto, 2003)

Recientemente, compuestos volátiles de bajo peso molecular, particularmente compuestos heterocíclicos obtenidos de la reacción de Maillard, han comenzado a estudiarse más por su contenido antioxidante. Entre los compuestos heterocíclicos

encontrados en los compuestos volátiles del café, pirroles y furanos, se ha demostrado la actividad antioxidante más fuerte, la cual es casi equivalente a la del alfa-tocoferol. (Yanagimoto, 2003)

Se han realizado otros estudios y se han encontrado menos de 300 compuestos heterocíclicos, entre ellos pirroles, oxazoles, furanos, tiazoles, imidazoles y pirazinas en el café preparado. Estos compuestos son productos químicos de las reacciones de Maillard. Compuestos volátiles obtenidos de un modelo de glucosa/cisteína poseen actividad antioxidante. (Yanagimoto, 2002)

Muchos autores (Yamaguchi, Berte & Gazzani, Takamura, Krings & Berger, Richelle, entre otros) han atribuido las fuertes propiedades antioxidantes del café a la presencia de ácidos fenólicos tales como ácidos clorogénicos, cafeicos, ferúlicos y cumárico, así como a las estructuras polifenólicas inducidas por calor que se forman debido a las reacciones de pardeamiento no enzimáticas durante el tostado. Al mismo tiempo, la cafeína aparentemente contribuye en la totalidad de la actividad enzimática del café debido a que actúa como un agente protector de las membranas en su daño oxidativo. (Andueza, 2004)

Por otra parte, el café demostró que actúa *in vitro* como un pro-oxidante. Estos resultados contradictorios pueden ser explicados al considerar que, dependiendo de la extensión del pardeamiento no enzimático, pro-oxidantes y antioxidantes pueden ser formados. En el caso de la reacción de Maillard, la cual es la reacción no enzimática más importante, muestra que las etapas tempranas de la reacción son responsables de la formación de pro-oxidantes mientras que en las etapas más avanzadas prevalecen los compuestos antioxidantes. Otros autores han contribuido a la actividad pro-oxidante a la degradación térmica de los polifenoles. Las variedades del café influyen en la capacidad antioxidante así como pro-oxidante. El café verde contiene diferentes cantidades de ácidos clorogénicos y otros compuestos polifenólicos dependiendo de su especie. Estos compuestos actúan como antioxidantes potentes. También se ha estudiado la influencia de la variedad del café en su capacidad antioxidante en el mismo y se han observado diferencias entre las propiedades antioxidantes del tipo Arábica y Robusta. (Andueza, 2004)

Recientemente se ha observado que la capacidad antioxidante del café se ve fuertemente afectada y puede cambiar durante su almacenamiento, incluso en condiciones anaerobias. Algunos estudios se han llevado a cabo para ver la influencia del proceso del tostado en su capacidad antioxidante. Durante este proceso, el café atraviesa varios cambios químicos. Los antioxidantes naturalmente son degradados por la aplicación de altas temperaturas, pero la actividad antioxidante puede ser mantenida debido a la formación de productos por la reacción avanzada de Maillard que poseen propiedades antioxidantes. Debido al desarrollo de Maillard, la reacción parece jugar un rol clave para contrarrestar la degradación térmica de los compuestos fenólicos de origen natural, por lo que se espera que la capacidad total antioxidante del café tostado sea estrictamente dependiente de cuánto dure en desarrollarse la reacción de Maillard durante este proceso. (Andueza, 2004)

La posibilidad de mantener las propiedades intrínsecas antioxidantes durante todos los pasos tecnológicos que proceden al tostado representa oiu un desafío en la producción de café y de productos a base de café cuyo perfil funcional es alto. Esto permitirá poder estimar el rol de los compuestos antioxidantes en extender la vida útil de productos de café al disminuir la velocidad de las reacciones de oxidación y posiblemente predecir su funcionalidad como productos de la dieta. (Anese, 1997)

III. MARCO TEÓRICO

A. Cafeína

La cafeína se conoce como la 1,3,7-trimetilxantina, es la base xántica responsable de las acciones fisiológicas que pueden darse en el café, y también es la encargada de darle el sabor amargo al mismo. El contenido que posee el café verde se ve influido por la especie. Por ejemplo, se encuentra en mayores cantidades en el café Robusta que en Arábica. También, en los granos verdes se puede observar formando un complejo poco soluble con el ácido clorogénico, lo cual va a evitar la toxicidad para los tejidos que posee la planta. Durante el proceso del tostado, además de que la temperatura de sublimación de la cafeína es de 178°C, se esperaría una disminución en la concentración. Sin embargo, esto no sucede e incluso se da un aumento porcentual debido a la combinación de varios factores, como por ejemplo el aumento de la temperatura de sublimación, la pérdida de peso que se da durante el tostado y la baja difusión del vapor de cafeína a través del grano. La cafeína se encuentra también en otros alimentos estimulantes como el té y el cacao. El té contiene mayor cantidad de cafeína por 100 g de materia seca, pero al momento de medir la concentración de esta base xántica en la taza de café, el resultado es mayor para el café pues se emplea mayor cantidad de producto en la preparación de la bebida. (Gil, 2010)

Cabe destacar algunas de las principales acciones que tiene la cafeína sobre el sistema nervioso central. Por ejemplo, provoca estimulación por lo que en dosis moderada inhibe el sueño y disminuye la sensación de fatiga, favoreciendo la concentración y aumentando el rendimiento intelectual, así mismo disminuye el tiempo de reacción y proporciona euforia y bienestar. También se ven afectos los periodos y tipos de sueño ya que disminuyen la duración de los mismos. Si se consumen dosis elevadas, puede inducir al nerviosismo, ansiedad, insomnio, temblor y palpitaciones. Disminuye el umbral de sensibilidad de los quimiorreceptores al anhídrido carbónico y aumenta la frecuencia y amplitud respiratorias. Otra de las consecuencias es que vuelve propensa a la persona a sufrir migrañas y dolores de cabeza. Ahora, los efectos que tiene sobre el sistema cardiovascular son por ejemplo, ser un estimulante cardíaco, producir un aumento de la fuerza de contracción muscular, provoca una vasodilatación periférica sobre los vasos

sanguíneos, disminuye el caudal en la circulación sanguínea cerebral que se asocia con un descenso en la presión del líquido cefalorraquídeo, dando así un alivio del dolor en las cefaleas. Si el consumo es alto puede presentar taquicardias. Los efectos sobre el aparato respiratorio son que los bronquios ejercen una ligera acción broncodilatadora e inhibidora de mediadores químicos broncoconstrictores, lo que puede ser interesante para el asma bronquial. Para el sistema excretor, tiene una acción diurética pues produce vasodilatación renal aumentando así el caudal sanguíneo y de la filtración glomerular. Y sobre la musculatura esquelética, la cafeína aumenta la capacidad funcional muscular ya que hace más potente la contracción y disminuye la fatiga, por lo que mejora el rendimiento físico en especial en aquellas tareas que requieren más esfuerzo físico y no tanto mental. (Gil, 2010)

Otros de los beneficios que le atribuyen al consumo del café por su contenido de cafeína es la disminución de padecer las enfermedades de Parkinson y de Alzheimer, la disminución de la formación de cálculos biliares por la ingesta de café y la acción antimicrobiana. (Gil, 2010)

B. Compuestos fenólicos (Polifenoles)

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios que están involucrados en la adaptación de la planta al ambiente, en defensa de la radiación ultravioleta o la agresión contra patógenos. Miles de compuestos fenólicos han sido descritos en las plantas de alimentos y pueden ser agrupados en diferentes clases de acuerdo a su estructura química (como el tipo y el número de anillos fenoles) así como en diferentes subclases, de acuerdo a sustituciones específicas en su estructura que están asociadas con formas polimerizadas y carbohidratos. Muchos de estos compuestos han recibido atención por sus factores potenciales en la disminución de enfermedades degenerativas y crónicas del ser humano, como cataratas, degeneraciones de la mácula, cáncer y diabetes. (Farah, 2006)

Mientras los taninos condensados son el grupo mayoritario de compuestos fenólicos en la pulpa del café, en las semillas se encuentran compuestos fenólicos predominantes de la familia de los ésteres formados entre algunos ácidos hidroxicinámicos y ácidos quínicos, conocidos como ácidos clorogénicos. Otros compuestos fenólicos, tales como

taninos, lignanos y antocianinas también están presentes en las semillas del café pero en menor cantidad. Los ácidos clorogénicos presentes en mayor cantidad (14%) tienen una alta influencia en determinar la calidad del café y de la formación del sabor del mismo. (Farah, 2006)

Los taninos solubles son el grupo fenólico más abundante en la pulpa del café y en la piel, y se estima que su concentración en el café Arábigo está entre 0.8% - 2-8%. Pequeñas cantidades de taninos insolubles condensados pueden ser encontrados en la pulpa también. Algunos tratamientos como remojar la pulpa en agua, soluciones alcalinas, ensilaje con melaza e inoculaciones con ciertos microorganismos pueden destruir o reducir el contenido de taninos. El almacenamiento de la piel y la pulpa del café Arábigo deshidratado puede causar un decrecimiento lineal en el contenido de taninos (39% anual) (Farah, 2006)

C. Ácidos clorogénicos

Los ácidos hidroxicinámicos son un grupo de compuestos presentes en la pared celular vegetal, cuyos principales representantes son el ácido ferúlico, p-cumárico, cafeico y sinápico, de los cuales el ácido ferúlico y p-cumárico son los de mayor abundancia en la naturaleza. Están formados básicamente por un anillo aromático, un grupo alifático y un ácido carboxílico en el extremo. Son denominados hidroxicinámicos por la sustitución del grupo -OH (hidroxilo) en el anillo aromático. (Gil, 2010)

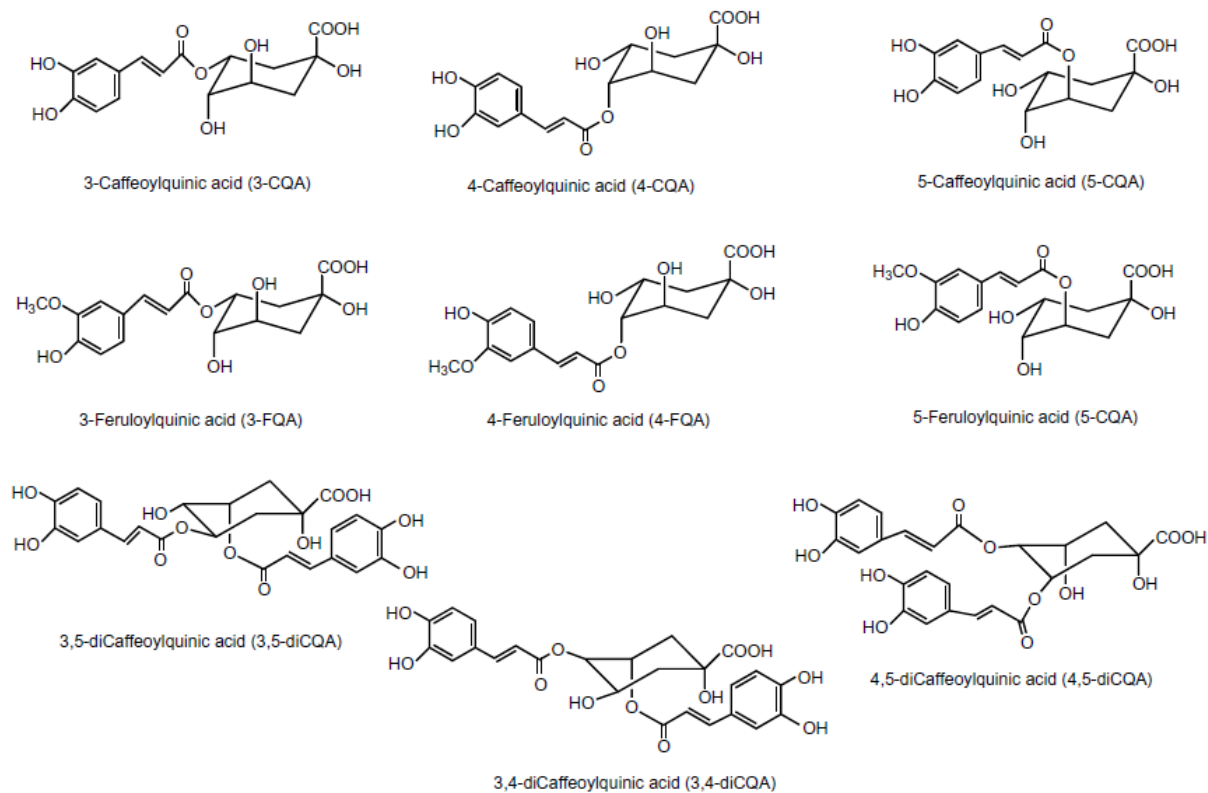
Estos ácidos son compuestos fenólicos que están clasificados dentro de los fenólicos simples o no flavonoides. Estos son clasificados como hidroxinamatos, ya que su estructura química a base de los ácidos clorogénicos es éster de ácido fenólico junto con el ácido quínico. Los derivados de estos ácidos se presentan por el carbón en el que se encuentra el enlace entre las dos moléculas y el número de moléculas del ácido fenólico presente. (Gil, 2010)

Los ácidos clorogénicos presentan una actividad antioxidante mayor, hipotensores, mejorando la tolerancia a la glucosa, disminuyendo los niveles lipídicos en plasma e hígado además de la inhibición de la glucosa-6-fosfato translocasa 1, lo que ayudará a disminuir la absorción de la glucosa que se adquiere con la dieta. También presenta

propiedades contra el cáncer pues produce apoptosis en células carcinomas escamosas orales y el tumor de ganglios salivares. (Gil, 2010)

El ácido clorogénico que abunda en el café es el 5-O-cafeoilquínico, un éster del ácido cafeico y del ácido quínico. El ácido cafeico se absorbe rápidamente en el estómago y lo hace mediante los transportadores monocarboxílicos y a su vez ingresa en el intestino delgado por difusión paracelular. Cuando se encuentra esterificado, es parcialmente absorbido tanto por el intestino delgado como por el grueso, luego de que fue metabolizado por la Microbiota. la absorción del ácido cafeico es 2.4 veces mayor que la del ácido clorogénico. (Gil, 2010)

Figura 1 Estructuras de los ácidos clorogénicos en muestras de café



(Fujioka, 2007)

D. Capacidad antioxidante

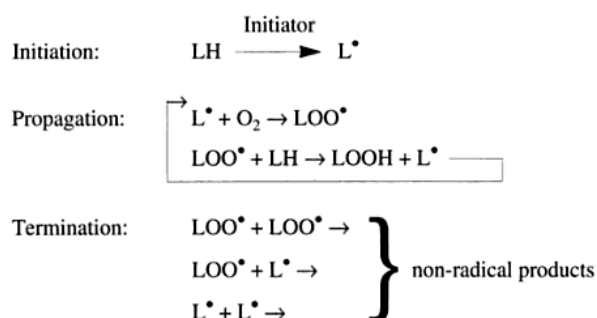
Los antioxidantes son sustancias que cuando están presentes en los alimentos o en el cuerpo a bajas concentraciones en comparación con aquellos sustratos oxidantes marcan un retraso o previenen la oxidación de estos sustratos. Las industrias de alimentos han utilizado los alimentos con antioxidantes para prevenir el deterioro de la calidad del producto y para mantener su valor nutricional. Los antioxidantes también son de gran interés para los profesionales bioquímicos y de la salud pues ayudan al cuerpo a protegerse contra los daños causados por las especies reactivas del oxígeno y las enfermedades degenerativas. (Shahidi, 1997)

Los antioxidantes son conocidos por actuar a diferentes niveles en la secuencia oxidativa que involucra las moléculas de lípidos. Estos pueden actuar al disminuir las concentraciones de oxígeno, interceptando el oxígeno singlete., y previenen las iniciaciones de las primeras cadenas al eliminar los radicales iniciales como los hidroxilos, uniendo el catalizador del ion metal, descomponiendo los productos primarios a compuestos sin radicales, y rompiendo las cadenas para prevenir la abstracción del hidrógeno de los sustratos. El grado al cual ocurre la oxidación de los lípidos también depende de la estructura química de los ácidos grasos involucrados así como de otros factores relacionados con el almacenamiento de los alimentos y las condiciones de reacción.(Shahidi, 1997)

Los antioxidantes naturales como fuente de la dieta incluyen compuestos fenólicos y polifenólicos, quelantes, antioxidantes, vitaminas y enzimas, así como también carotenoides y carnosina. Los mecanismos en los cuales están involucrados estos antioxidantes como el control de la autooxidación de alimentos y la prevención de la rancidez pueden ser diferentes. Sin embargo, su presencia en las plantas puede ser para la protección de daños a los tejidos. Adicionalmente, los efectos benéficos del consumo de alimentos provenientes de las plantas ha sido descrito, en parte, a la presencia de los antioxidantes en la misma, los cuales están asociados con la disminución de los riesgos de muchas de las enfermedades cardiovasculares, cáncer, cataratas entre otras enfermedades degenerativas causadas por la edad. (Shahidi, 1997)

El proceso de la autooxidación y desarrollo de rancidez en los alimentos involucra un mecanismo en cadena de radicales libres que procede la iniciación, propagación y los pasos de finalización. Mientras los radicales son producidos en los pasos de iniciación, estos reaccionan con ácidos grasos insaturados al extraer un átomo de hidrógeno de sus moléculas durante el paso de propagación. La reacción en la propagación hace una reacción en cadena hasta que ocurre la reacción de finalización. (Shahidi, 1997)

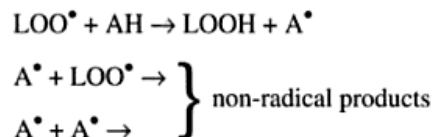
Figura 2 Mecanismo de los radicales libres



(Shahidi, 1997)

Los antioxidantes (AH) interfieren con el proceso anterior a través de distintos mecanismos. Estos involucran la inactivación de prooxidantes en el medio, tales como carotenoides que eliminan singletes del oxígeno o quelantes que inactivan la catálisis de los metales. Estas reacciones conllevan a un retraso en el comienzo de la oxidación y extienden el período de la inducción. Los antioxidantes pueden también donar un átomo de hidrogeno o un electrón a los radicales formados de lípidos insaturados, así imparten estabilidad a los lípidos de los alimentos. (Shahidi, 1997)

Figura 3 Forma en que interfieren los antioxidantes en el proceso de los radicales libres



(Shahidi, 1997)

En el cuerpo, los radicales libres pueden estar involucrados en un sin número de enfermedades y de daños a tejidos como en los pulmones, corazón y el sistema cardiovascular, riñones, hígado, tracto gastrointestinal, sangre, piel, ojos, músculos, cerebro y el proceso de envejecimiento. Oxidantes y radicales que provocan varios desórdenes son especies reactivas que son formadas por los tripletes de oxígeno, agua y moléculas de lípidos insaturadas. (Shahidi, 1997)

Las plantas proveen una rica fuente de antioxidantes naturales. Esto incluye tocoferoles, vitamina C, carotenoides y compuestos fenoles. Los fenoles de las plantas se cree que protegen a la planta contra daños a los tejidos al oxidarse y combinarse con proteínas y otros compuestos. (Shahidi, 1997)

E. pH

El ácido y lo básico son dos extremos que describen las propiedades químicas. El mezclar ácidos con bases puede cancelar o neutralizar sus efectos extremos. Una sustancia que no es ácida ni básica es neutral. La escala de pH mide qué tan ácido o básico es una sustancia. El rango va entre 0 a 14, en donde 7 es neutro, mayor de 7 es básico y menor de 7 es ácido. La escala es logarítmica, y como resultado cada valor por debajo de 7 es diez veces más ácido que el siguiente valor alto. Lo mismo sucede con los valores por arriba de 7. El agua pura, por ejemplo, es neutral, pero cuando se mezclan químicos con el agua, esta mezcla puede convertirse ya sea ácido o básico. El pH de una solución usualmente es medida utilizando un pH-metro, un aparato electrónico con un electrodo que puede ser introducido en una solución con pH desconocido. El electrodo posee una solución acuosa acidificada encerrada por una membrana de vidrio especial que permite la migración de los iones H^+ . Si la solución desconocida tiene un pH diferente de la solución en el electrodo, se da un resultado potencial eléctrico, que se registra en el aparato. (Zumdahl, 2010)

F. Color

El color es la composición de características tridimensionales que consisten en atributos ligeros y dos atributos cromáticos, los cuales son llamados matiz y saturación. Debido a que el color es tridimensional, se requiere un sistema de sólidas coordenadas para representar el color gráficamente. El término “color sólido” es ampliamente usado

para identificar dimensionalmente los arreglos que son relativamente útiles a los atributos visuales del color. (Hunter, 1987)

El término matiz se refiere al tono del color que se observa a simple vista siendo así el color más obvio, mientras que la especificación de un color consiste más que en la designación de un matiz. Los colores de un mismo matiz pueden diferir en concentración. Este concepto se denomina saturación, y se transmite con conceptos como profundidad, intensidad y pureza. La saturación es más sutil y menos obvia que el matiz, pero se está muy consciente sobre eso. (Hunter, 1987)

Los colores del arcoíris ubicados en un círculo harán un matiz como el que se observa en la Figura 4. El concepto, o dimensión, de la saturación puede ser incorporado en el círculo de matiz si el punto central del círculo es considerado un gris neutro y el color más saturado se ubica en el punto más lejano del centro, por lo que luciría como la figura5. Un cambio en el matiz es indicado con un movimiento alrededor del círculo, mientras que un aumento en la saturación es indicado por una distancia mayor en las afueras del punto gris del centro. El tercer atributo que se debe tomar en cuenta es la luminosidad. (Hunter, 1987)

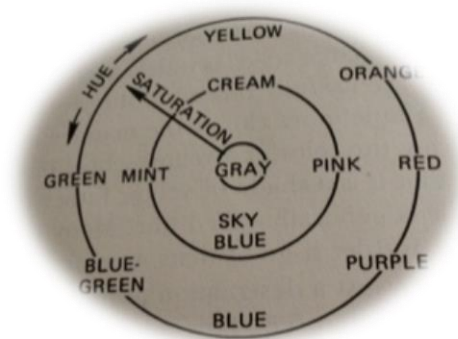
Como se puede observar en la Figura 6, el eje negro-gris-blanco de los colores sólidos posee un arreglo de los colores opuestos. La dimensión rojo-verde corre del lado derecho al izquierdo y las tonalidades azul-amarillo sale de atrás para adelante. (Hunter, 1987)

Figura 4 Arreglo de colores en un círculo de matiz



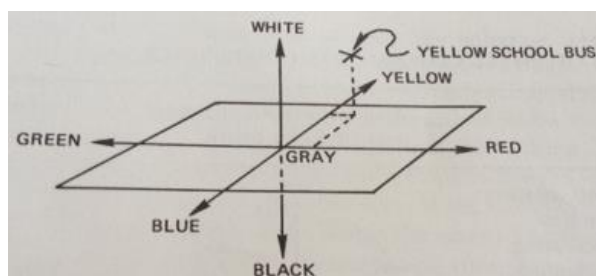
(Christian, 2009)

Figura 5 Arreglo de colores en una superficie de matiz y de saturación



(Christian, 2009)

Figura 6 Las tres dimensiones de los colores opuestos en el espacio



(Christian, 2009)

G. HPLC

La cromatografía es un método físico de separación, en la cual se basa en la migración diferencial de los componentes de la muestra, que serán acarreados por la fase móvil sobre o a través de una fase estacionaria colocada en una columna; la velocidad con la que cada componente migra, depende de la afinidad o adsorción del compuesto entre las fases móvil y estacionaria. Existen varios tipos de cromatografía, pero las más importantes son la cromatografía de líquidos de alta presión (HPLC) y la cromatografía de gases (GC). (Baduí, 2006)

En la cromatografía de gases se separan sustancias gaseosas con base en su adsorción o partición en una fase estacionaria a partir de una fase gaseosa. La cromatografía de líquidos son técnicas como la de exclusión de tamaño (separación basada en el tamaño molecular), de intercambio iónico y de la cromatografía de líquidos de alta eficiencia (en

sus siglas en inglés HPLC, high-performance liquid chromatography) que está basada en la adsorción y/ o separación de una fase líquida. (Christian, 2009)

Todos los mecanismos se basan en alcanzar un equilibrio entre una fase estacionaria y una fase móvil. El procedimiento es colocar un pequeño volumen de la muestra en la parte superior de la columna, la cual está llena de la fase estacionaria y disolvente. Luego de ellos se debe agregar la fase móvil del disolvente a la columna y se espera a que salga lentamente por su parte inferior. Los componentes van a interaccionar con la fase estacionaria con diferentes intensidades, definiendo así la constante de distribución:

$$K_C = \frac{[X]_s}{[X]_m}$$

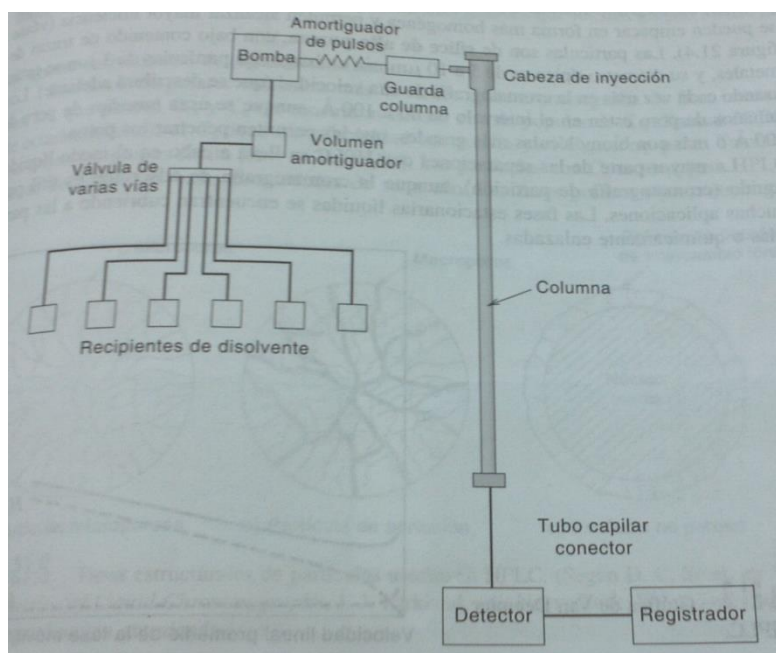
(Christian, 2009)

Donde $[X]_s$ es la concentración del componente X sobre o en la fase estacionaria, y $[X]_m$ es su concentración en la fase móvil. Esta constante se ve afectada por la temperatura, la fase estacionaria y móvil y también el compuesto que se analiza. Los solutos que presentan un valor grande de K_c serán retenidos con mayor fuerza por la fase estacionaria que los que poseen un valor pequeño. Siempre existe un retraso de las moléculas de analito pues no se alcanza un equilibrio perfecto entre las dos fases, lo cual dependerá de qué tan rápido es el flujo de la fase móvil y el grado de interacción con la fase estacionaria. El resultado es el ensanchamiento de la banda. (Christian, 2009)

La cromatografía de líquidos de alta eficiencia ha venido a sustituir en gran medida a la cromatografía de líquidos clásica. La rapidez de la distribución de solutos que se encuentran entre la fase estacionaria y la fase móvil, en la cromatografía de líquidos clásica se encuentra controlada por difusión en su mayoría. Esta difusión y el tiempo que se requiere para mover los componentes de la muestra hacia los sitios de interacción en la columna debe cumplir con dos criterios: el primero es que el material del empaque debe estar finamente dividido y a su vez tener una alta regularidad esférica ya que esto permite una óptima homogeneidad y densidad de empaque; la segunda es que la fase estacionaria debe estar como una película delgada y uniforme para evitar el estancamiento. Las micropartículas utilizadas en HPLC inicialmente eran de gel de sílice

o de alúmina. A partir de entonces, se han desarrollado otras partículas esféricas que se pueden empaquetar en forma más homogénea y esto ayuda a ser más eficiente. Las partículas son de sílice de alta pureza con un contenido bajo de trazas de metales. Las partículas utilizadas comúnmente son las partículas microporosas o difusivas permeables al disolvente. En su mayor parte la superficie está dentro de los poros. (Christian, 2009)

Figura 7 . Componentes básicos de un cromatógrafo de líquidos de alta eficiencia



(Christian, 2009)

1. Equipo para HPLC. Las presiones que se requieren dependiendo del equipo que se esté utilizando son de hasta 1,000 a 3,000 libras por pulgada cuadrada para tener una rapidez de flujo de 1 a 2 mL/min, en columnas de 3 a 5mm de diámetro y de 10 a 30 cm de longitud, a pesar que en algunos casos se requiere una presión de hasta 6000 psi. El aparato de cromatografía de líquidos de alta eficiencia se compone de cuatro partes:

- Sistema de suministros de fase móvil: Este sistema posee un medio que produce el gradiente de elución y una bomba para alcanzar altas presiones requeridas. El gradiente de elución se refiere a cambiar las concentraciones del eluyente, ya sea su disolvente, sus sales o su grupo H^+ . Existen diferentes disolventes con distintas polaridades que pueden

ser útiles para llenar los depósitos de disolventes, siempre y cuando sean miscibles, o se puedan llenar con soluciones de pH diferentes pues se mezclan en el volumen amortiguador. Deben ser puros y desgasificados para evitar la formación de burbujas, ya que esto puede entorpecer el correcto funcionamiento de la válvula. Además, genera picos falsos cuando llegan a pasar por el detector, y es aún más grave cuando se mezclan disolventes porque la solubilidad de aire en mezclas es menor que en la proporción de disolventes puros. Los flujos suelen ser de 1 a 2 mL/min en columnas convencionales. La bomba que es más utilizada en HPLC es la reciprocante, ya que tiene una pequeña cámara cilíndrica de pistón que se va llenando con la fase móvil y se vacía en forma alternativa pues posee un movimiento de ida y vuelta al pistón. Esto provoca un flujo pulsante y se debe amortiguar. (Christian, 2009)

- Sistema de inyección de la muestra: el sistema más común está compuesto de un anillo de acero inoxidable con seis conexiones diferentes, una de las cuales va a la columna. En el interior del anillo existe un cono móvil de material de teflón que posee tres segmentos abiertos, y en cada uno de ellos se conecta un par de las conexiones externas. Dos de estas conexiones se unen con un circuito externo de muestra, de volúmenes conocido o fijo. El cono permite el flujo directo del efluente a la columna, y esto provoca que el circuito se llene con la muestra. Luego el cono se gira 30° para lograr así que el circuito de la muestra sea parte de la corriente en movimiento, la cual barre la muestra y esto la lleva a la columna. Las presiones de inyección pueden alcanzar los 6000 psi. Las muestras pueden ser inyectadas de forma manual con una jeringa o de manera sistemática con válvulas automáticas de muestreo y su operación no necesita mayor atención. (Christian, 2009)

- Columna: existen de varios diámetros y longitudes, y todas se construyen de forma alargada y recta pues el proceso es más eficiente. En promedio, el diámetro interno posee 3.9 a 4.6 mm. Las partículas más pequeñas se mantienen en longitudes de 25cm o menos, debido a las grandes caídas de presión. No es necesario llevar un control de la temperatura en la cromatografía líquido-sólido, a excepción que se deba trabajar con temperaturas muy elevadas. Entre el inyector y la columna se debe colocar un guardacolumna o precolumna (3-10cm). Este se coloca para tener la basura como fragmentos de sellos de bomba y materia sólida que viene de la muestra para evitar que la ensucie y modifique su eficiencia y selectividad. Otra razón de su uso es para retener

compuestos que se han retenido frecuentemente sin eluirse. Esta columna adicional alarga la duración de la columna analítica, pero debe cambiarse periódicamente. (Christian, 2009)

- Detector: para la HPLC se requieren detectores con gran sensibilidad para cantidades de microgramos a nanogramos. Los más utilizados son refractómetros y detectores de UV. El detector ultravioleta tiene una mejor sensibilidad de 10^{-5} a 10^{-6} g/mL (10 a 1 ppm). Algunas de sus características es que no es sensible a la temperatura, el costo es relativamente bajo y se puede utilizar con un gradiente de elución, además es sensible a varios compuestos orgánicos. El otro tipo de detectores comunes y útiles de los instrumentos de HPLC es el detector de serie de diodos. En éste, la fuente de radiación focal pasa a través de una celda de detector de flujo para ser dispersada por una rejilla a una serie de fotodiodos para su detección. Esto permite desarrollar un perfil en tercera dimensión con la información mostrada a través del tiempo, longitud de onda y los ejes de absorbancia. Una vez esta información está disponible, el espectro de absorbancia puede ser obtenido de los compuestos de interés y puede ser manipulado matemáticamente de igual forma que los datos del detector de UV. Este tipo de detectores da un poder adicional de resolución así como también de identificación a nivel de huellas digitales. (Christian, 2009)

H. Reacción de Maillard

Fue descubierta en el año de 1912 y se ha catalogado como una de las reacciones más complejas. Se divide en las siguientes etapas:

- Etapa inicial: productos incoloros, sin absorción en la luz ultravioleta
 - o Reacción A: Condensación azúcar-aminoácido
 - o Reacción B: Rearreglo de amadori
- Etapa intermedia: Productos incoloros o con tonalidades amarillas, con fuerte absorción por la luz ultravioleta
 - o Reacción C: Deshidratación de azúcares
 - o Reacción D: Fragmentación de azúcares
 - o Reacción E: Degradación de aminoácidos (Degradación de Strecker)
- Etapa final: Productos altamente coloreados
 - o Reacción F: Condensación de Aldol
 - o Reacción G: Condensación de amino-aldehído y formación de compuestos nitrogenados heterocíclicos

(Nursten, 2005)

- **Reacción A: Condensación de azúcar-aminoácido:** Esta reacción es reversible. El amino puede ser una proteína, y se ha demostrado que la insulina reaccionará con la glucosa a un ritmo significativo incluso en temperatura ambiente. En este punto, reaccionan los grupos carbonilos de los azúcares reductores con los grupos amino de los aminoácidos y proteínas para llevar a cabo la formación de carbonilaminas o glicosilaminas N-sustituidas. (Bello, 2008)

- **Reacción B: Rearreglo de amadori:** Esta reacción es irreversible y toma lugar espontáneamente a temperaturas de 25°C. Consiste en la isomerización en medio ácido del N-glicósido de una aldosa a su correspondiente 1-amino-1-desoxicetosa. El mecanismo comienza a partir de la aldosa en su forma hemiacetálica, luego se abre a su forma lineal, luego se forma el hemiaminal lineal en presencia de amoníaco, el cual es inestable y se deshidrata, con lo que se obtiene el amino azúcar correspondiente. (Nursten, 2005)

- **Reacción C: Deshidratación de azúcares:** esta deshidratación ocurre en dos vías, bajo condiciones ácidas en las cuales los furfurales son producidas y la otra es en condiciones alcalinas o en la presencia de aminos en las cuales algunas reductonas son favorecidas. (Nursten, 2005)

- **Reacción D: Fragmentación de azúcares:** el mecanismo por el cual se da la fragmentación del azúcar es considerado como un proceso retroaldólico, en el cual se lleva a cabo la ruta del glicolítico, donde la fructosa-1-6-difosfato se divide en dihidroxiacetona-fosfato y el gliceraldehído-3-fosfato. Fragmentos que retienen el alfa-hidroximetilcarbonyl atravesará el pardeamiento individualmente en soluciones acuosas, pero esto acelerará grandemente la presencia de aminos. (Nursten, 2005)

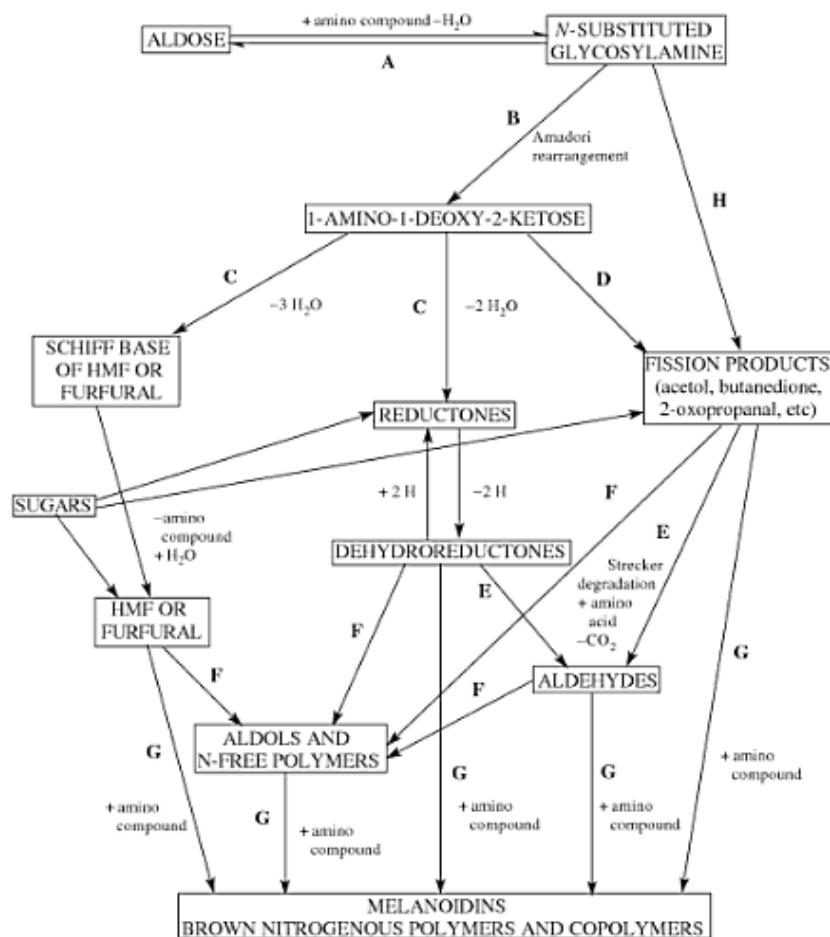
- **Reacción E: Degradación de aminoácidos (Degradación de Strecker):** este mecanismo se lleva a cabo en presencia de ciertos compuestos alfa-dicarbonílicos que son capaces de interaccionar con los alfa-aminoácidos. El aminoácido sufre una desaminación y una descarboxilación en la cual forma un aldehído. El CO₂ que se desprende proviene de la molécula del aminoácido, en el que su grupo amino emigra a la molécula dicarbonílica, y de esta forma participa en las estructuras de los pigmentos pardos cuando se forman. (Bello, 2008)

- Reacción F: Condensación del Aldol: Los aldehídos que se generan en las reacciones C, D y E pueden reaccionar entre ellos gracias a la condensación de aldol. Las aminas son catalizadores efectivos. Las benzoquinonas pueden actuar como componentes de los dicarbonil en la reacción de Strecker, y pueden estar involucradas en la producción de melanoidinas. Las benzoquinonas son derivadas de los polifenoles y constituyen los conocidos intermediarios en la reacción enzimática de pardeamiento. (Nursten, 2005)

- Reacción G: Condensación de amino-aldehído: De un sistema que forma un azúcar y un aminoácido pueden aparecer mezclas muy complejas de una variedad de sustancias que son reactivas, por ejemplo furfural y derivados, osulosas insaturadas, aldehídos que proceden de la degradación de aminoácidos, cetonas y aldehídos, etc. La etapa final es un proceso de polimerización en el cual surgen dos mecanismos. El primero explica que a través de la formación de un aldehído insaturado más estable que surge de la reacción catalizada por la presencia del aminoácido. Estos compuestos carbonilos forman los polímeros con los grupos que están disponibles de aminos. A través de este mecanismo, las proteínas de un alimento quedan vinculadas a la estructura química que caracteriza los pigmentos pardos. Las melanoidinas son los productos finales y se caracterizan por ser de alto peso molecular. El otro mecanismo que explica la formación de melanoidinas se basa en la formación de reductonas a través de una enolización 2,3 en lugar de la 1,2 necesaria para la transposición de Amadori. Esto sucede en medios alcalinos o donde la amina enlazada al azúcar es muy básica. Ocurre en alimentos cuyo pH es próximo a 7.0. (Bello, 2008)

Se debe tomar en cuenta que siempre que las condiciones de almacenado sean favorables para la rancidez de los lípidos de los alimentos, también se puede dar la interacción entre aminoácidos y los productos que resulten del proceso oxidativo de las grasas. De esta cuenta, se reduce la disponibilidad de los aminoácidos y por ende el valor nutritivo de los alimentos. (Bello, 2008)

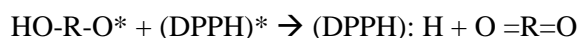
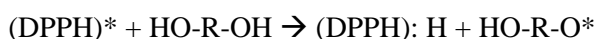
Figura 8 Reacción de Maillard



(Nursten, 2005)

I. DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil)

Un método para la evaluación de la actividad antioxidante de un compuesto es evaluar su actividad de inhibir los radicales gratis. Los antioxidantes deben reaccionar con radicales libres como el radical hidroperóxido generado de la peroxidación lipídica para concluir la propagación de la reacción en cadena. El radical DPPH, que es un radical bastante estable, ha sido utilizado para determinar los efectos de inhibición en los radicales libres de algunos antioxidantes. El mecanismo de la reacción de los antioxidantes con el radical DPPH utiliza la siguiente fórmula:



(Shahidi, 1997)

El radical DPPH con un color violeta profundo recibe un protón del antioxidante convirtiéndolo en una especie DPPH protonada sin color. Usando este reactivo, la habilidad de eliminación del radical libre del antioxidante puede ser medida por un método de espectrofotómetro. La habilidad del radical del DPPH de los compuestos fenólicos se debe a su habilidad del hidrógeno donador. El número de grupos hidroxilos en la estructura de las catequinas o las teaflavinas puede estar relacionada con su habilidad del hidrógeno donador, y así la presencia de mayores grupos hidroxilos en la molécula de catequina o teaflavina aumenta la habilidad de su eliminación del radical libre. (Shahidi, 1997)

IV. JUSTIFICACIÓN

El café es el segundo producto más comercializado en el mundo después del petróleo, y se encuentra entre las bebidas más consumidas alrededor del mundo. Esto explica su importancia tanto para los países que lo producen como para los que lo consumen. Una variedad de países consumidores de café tales como en América, Asia y Europa han encontrado este producto como clave para su desarrollo económico. Su importancia se encuentra en que, tanto como cultivo o como artículo que se exporta y se consume, conlleva una serie de pasos y etapas en los cuales se ven involucradas miles de personas, empezando por la formación de almácigos, el transplante, cultivo, poda, cosecha, despulpado, fermentación, lavado, secado, descascarado, escogido, empacado, comercializado, transporte, embarque y desembarque, separado, mezclado, tostado, empacado y etiquetado hasta que finalmente llega a la venta para el consumidor.

Guatemala es considerada una de las grandes productoras de café de calidad pues posee muchas características como climas variados, tierras ricas en nutrientes y con la elevación adecuada para la cosecha de un buen grano de café. Además, está ubicado entre los primeros diez países con mayor exportación de café, lo cual significa que es una de las principales fuentes de ingresos económicos para el país así como para la generación de empleo para muchos guatemaltecos. Es por ello que el cultivo de café es considerado una “base sólida para el desarrollo económico y social de Guatemala” (González, 2008).

Existen varios estudios en los que se ha investigado y analizado el café desde diferentes puntos de vista, pero aún hacen falta desde el punto de vista químico del café guatemalteco. La Asociación Nacional del Café (ANACAFÉ) tiene como objetivo velar por los intereses de los productores de café en el país, además de brindar servicios de asistencia técnica, investigación, asesorías e información del mercado. Es por ello que, junto con el apoyo de esta entidad, se ha considerado importante realizar un análisis químico para determinar las propiedades que posee el café tales como cafeína, capacidad antioxidante, ácidos clorogénicos, polifenoles, pH y color que nos permitirán establecer un perfil para el café de las ocho regiones establecidas en Guatemala. De esta manera se pueden determinar

todos los parámetros que influyen en la calidad del café. La cafeína aparte de ser muy buscada por los consumidores, aporta antioxidantes al café. De igual forma funcionan los antioxidantes. Los ácidos clorogénicos son los encargados de brindarle al café sus propiedades ácidas o amargas, dándole el sabor característico por región. Los polifenoles permiten establecer algunos sabores y aromas del café, y el pH y el color nos van a permitir diseñar el perfil que posee cada uno de los cafés que se van a analizar por regiones en Guatemala. Esto permite realizar un análisis para establecer la calidad de café que posee Guatemala.

Se pretende aplicar los conocimientos adquiridos de Ciencias en los Alimentos para poder abordar este tema con el uso de equipos tecnológicos y pruebas aprobadas para su estudio. Los resultados aportarán un beneficio para profesionales del campo así como para los miembros de las sociedades de caficultores pues de esta manera se pueden realizar estudios posteriores sobre las propiedades que brinda cada grano de café a la salud de los consumidores así como su valor nutricional en cuanto a su consumo dependiendo de la región específica del país que será analizada.

V. OBJETIVOS

A. GENERALES

1. Caracterizar fisicoquímicamente y en capacidad antioxidante los cafés originarios de las ocho regiones establecidas por Anacafé de Guatemala, siendo éstas Highland Huehue, Antigua Coffee, Volcanic San Marcos, Fraijanes Plateau, New Oriente, Traditional Atitlán, Acatenango Valley y Rainforest Cobán.

B. ESPECÍFICO

1. Determinar cafeína, ácidos clorogénicos, polifenoles y capacidad antioxidante en los distintos cafés originarios de las ocho regiones de Guatemala.
2. Determinar las características fisicoquímicas como pH y color en las muestras de café.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Muestras de café

Se utilizó ocho muestras distintas de café de las ocho regiones establecidas en Guatemala, siendo estas: Highland Huehue, Antigua Coffee, Volcanic San Marcos, Fraijanes Plateau, New Oriente, Traditional Atitlán, Acatenango Valley y Rainforest Cobán. Fueron proporcionadas por la Asociación Nacional del Café (ANACAFÉ).

B. Preparación de las muestras de café

Se pesó 100 mg de cada muestra de café y se les agregó 50 ml de agua desmineralizada. Se calentó en una estufa marca ThermoScientific a 50°C durante una hora y se les colocó un agitador magnético para mantenerlos con agitación constante. Luego de eso, se aforó cada una de las muestras a 100ml en un balón volumétrico.

C. Determinación de cafeína y ácidos clorogénicos

1. Materiales

- a. Muestras de café de las ocho regiones (Según sección “B. Preparación de las muestras”)
- b. Cafeína marca Sigma-Aldrich, pureza 100.7%
- c. Ácido clorogénico 5-cafeoilquínico marca Sigma-Aldrich, pureza $\geq 95\%$
- d. Metanol marca Merck, pureza 99.9%
- e. Agua destilada
- f. Balones volumétricos
- g. Jeringa con filtro marca Millex (tamaño del poro 0.22 μm)
- h. Viales

2. Equipo

- a. HPLC marca Agilent modelo 1100 con detector de UV/VIS con arreglo de diodos con una columna Eclipse Plus C-18 y un tamaño de partícula de 5 μm .

3. Estándares. Se pesó 0.025g de cafeína y se aforó en un balón volumétrico de 50ml. Una vez aforado, se realizó 5 distintas diluciones en balones volumétricos con una concentración de 5, 10, 15, 20 y 25 partes por millón. Se realizó la curva estándar utilizando el equipo de HPLC inyectando una por una las muestras, desde la primera hasta la quinta muestra, con un tiempo entre corridas de 3 min. La longitud de onda usada fue de 274 nm usando una fase móvil de metanol-agua en una relación 40:60 con un flujo de 1.5 ml/min inyectando 20 µl de muestra. Las concentraciones fueron calculadas utilizando la ecuación de regresión lineal.

Para la preparación de los estándares de ácidos clorogénicos se pesó 0.0526g de ácido clorogénico 5-cafeoilquínico y se aforó en un balón volumétrico de 50 ml. Luego de ello, se realizó 5 diluciones en balones volumétricos con una concentración de 10, 20, 30, 40 y 50 partes por millón. Se realizó el mismo procedimiento de inyección con el equipo de HPLC descrito previamente para los estándares de cafeína. La longitud de onda usada fue de 325 nm.

4. Muestras. Se filtró 2ml de cada una de las muestras preparadas según la sección B “Preparación de las muestras de café”, usando la jeringa con el filtro y se colocó en un vial. Se realizó el mismo procedimiento de inyección con el equipo de HPLC descrito en la sección C.3. “Estándares”, inyectando las muestras del café de las ocho regiones. La lectura se aplicó para ambos análisis, cafeína y ácidos clorogénicos.

D. Determinación de capacidad antioxidante por método de DPPH

1. Materiales

- a. Reactivo de DPPH marca Sigma-Aldrich
- b. Metanol marca Merck, pureza 99.9%
- c. Agua Destilada
- d. Balones volumétricos
- e. Agitador magnético
- f. Papel filtro marca Whatman #4 con tamaño de poro 110 mm.
- g. Envases plásticos
- h. Tubos de ensayo

- i. Gradilla
- j. Pipetas de 1 mL

2. Equipo

- a. Aparato de Espectrofotometría UV/VIS marca Thermo Electron Corporation modelo Genesys 10 UV scanning
- b. Vortex
- c. Micropipeta con puntas de 1 mL

3. Preparación de muestras. Se preparó una solución de agua-metanol 30:70 y se tomaron 50ml de esta solución para mezclar con 10ml de cada una de los extractos de café preparados según la sección “B. Preparación de las Muestras de Café”. Se agitó utilizando un agitador magnético a temperatura ambiente durante una hora. Se filtró las soluciones usando filtros #4 y se almacenó en refrigeración en envases plásticos. Se preparó 10 tubos para cada una de las soluciones filtradas de café según las diluciones en el Cuadro 2.

Cuadro 2 Preparación de las diluciones para cada muestra filtrada de café

# Tubo	Bebida Diluida mL	Metanol mL	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

4. Procedimiento. Se colocó los 10 tubos en una gradilla para luego ser agitados por un vortex durante 15 seg cada uno y así obtener una mezcla homogénea en cada tubo. Luego de eso, se midió la absorbancia de cada tubo a través del aparato de espectrofotometría a una longitud de onda de 517 nm, utilizando como blanco al metanol puro. Después de la lectura, se almacenó en un lugar oscuro durante 30 min. Al

transcurrir el tiempo, se volvió a repetir las lecturas de absorbancia agitándolas previamente en el Vortex por 15 segundos más. Una vez obtenidos los datos para el tiempo 0 y para el tiempo 30 min, se continuó con la determinación de la capacidad antioxidante a través de la ecuación 1 para obtener el porcentaje de pérdida de absorbancia. Se graficó los datos para poder encontrar la ecuación de la recta y así determinar el valor para IC50.

$$\% \text{ pérdida de absorbancia} = \left[\frac{(abs_0 - abs_{30})}{abs_0} \right] \times 100$$

(Ecuación 1)

E. Determinación de polifenoles

1. Materiales

- a. Reactivo de Folin-Ciocalteu marca Merck
- b. Reactivo Catecol marca Sigma-Aldrich, pureza 99%
- c. Reactivo Carbonato de Sodio marca Merck, pureza 99.9%
- d. Metanol marca Merck, pureza 99.9%
- e. Agua destilada
- f. Papel aluminio
- g. Pipetas de 1 mL

2. Equipo

- a. Vortex
- b. Aparato de Espectrofotometría UV/VIS marca Thermo Electron Corporation modelo Genesys 10 UV scanning
- c. Equipo para Baño de María
- d. Micropipeta con puntas de 1 mL

3. Estándares. Se preparó una solución de Folin-Ciocalteu pesando 10ml del reactivo y se aforó en un balón de agua destilada de 100ml. Para el Catecol, se pesó 0.0060g del reactivo y se aforó en un balón de 100ml con agua destilada. Y para el carbonato de sodio, se pesó 7.5040g del reactivo y se aforó en un balón de 100ml con

agua destilada. El reactivo de Folin-Ciocalteu así como el Catecol se empacó con papel aluminio en su totalidad.

Luego se preparó 5 tubos y un blanco siguiendo las diluciones del Cuadro 3, las cuales fueron agregadas en el siguiente orden: primero Catecol, segundo Agua, tercero Carbonato de Sodio, cuarto Reactivo de Folin Diluido. Una vez agregado el reactivo de Folin, se agitó cada tubo durante 10 segundos utilizando un vortex. Luego, los tubos se colocaron en un baño de María a una temperatura de 45°C durante 20 min. Se configuró el equipo para la elaboración de una curva estándar a una longitud de onda de 765 nm. Se hizo la lectura de cada uno de los tubos, primero con el blanco y luego con el resto de las muestras para poder obtener la curva.

Cuadro 3 Preparación de diluciones para determinación de Polifenoles

Tubo #	Agua (ml)	Catecol (ml)	Folin (ml)	Na ₂ CO ₃ (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

4. Muestras. Se utilizó las muestras preparadas en la sección “D.3. Preparación de Muestras”. Luego, se usó los reactivos preparados de Folin y Bicarbonato de Sodio para el análisis de las muestras. Con el uso de tubos, se les adicionó a cada uno los reactivos anteriores usando las diluciones según el Cuadro 4, en el siguiente orden: primero la muestra, segundo el Carbonato de Sodio y por último el Folin. Después se agitó por 10 segundos en un vortex y fueron colocados en un baño de María durante 20 min a una temperatura de 45°C. Luego de ello se leyó la absorbancia de cada tubo, utilizando como blanco la solución preparada en el Cuadro 3. Se determinó la concentración de polifenoles a través del uso de estequiometría.

Cuadro 4 Preparación de las muestras

Muestra (ml)	Na ₂ CO ₃ (ml)	Folin (ml)
1.0	2.0	2.5

F. Determinación de pH y colorimetría

1. Determinación de pH. Se utilizó un potenciómetro marca Hanna modelo HI 99161 para determinar el pH de cada una de las muestras preparadas en la sección “B. Preparación de las muestras”, y se calibró con la solución buffer de pH 4.01 y 7.00 marca Merck. El electrodo fue introducido en el extracto de café para tomar la lectura hasta que se estabilizó el aparato según las indicaciones que presentaba.

2. Colorimetría. Se utilizó el colorímetro marca Hunter Lab modelo ColorQUEST II para medir el color en cada una de las muestras preparadas de café en la sección “B. Preparación de las muestras”. Se utilizaron 100mL de extracto de café en la celda y se realizó la lectura de cada muestra.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la actualidad, la tendencia en el consumo de bebidas ha cambiado pues no solo se consumen por su buen sabor o por el gusto adquirido sino también por los beneficios que ésta les puede brindar, como por ejemplo en la bebida de café que posee antioxidantes. Es importante mencionar que el café de Guatemala es considerado como uno de los mejores del mundo por su calidad. Entre sus principales mercados se encuentran Estados Unidos y Japón.

Es por ello que se decidió realizar un estudio con el objetivo de determinar el contenido de cafeína, polifenoles, ácidos clorogénicos, capacidad antioxidante, pH y color que poseen los distintos cafés de las ocho regiones establecidas en Guatemala por ANACAFÉ para fundar el perfil característico de cada café dependiendo de la región de su cosecha, siendo estas: Highland Huehue, Antigua Coffee, Volcanic San Marcos, Fraijanes Plateau, New Oriente, Traditional Atitlán, Acatenango Valley y Rainforest Cobán.

Los primeros análisis que se realizaron fueron el contenido de cafeína y ácidos clorogénicos. Se pudo 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 5. Se ha encontrado que la especie de café Arábico posee una concentración entre 0.9% - 1.5% de contenido de cafeína, por lo que se pudo observar que todos los cafés están en este rango. También es importante mencionar que en cada una de las regiones existen diferentes condiciones climáticas, diferentes formas de cosecha, una variedad de altitudes, entre otras, por lo que existen variaciones entre cada una de las regiones establecidas en Guatemala. Es por ello que se decidió seleccionar el café de una misma organización para lograr una mejor estandarización en el tratamiento del café de cada lugar, específicamente el tostado y molido.

Algunos estudios han demostrado que a partir 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.

Cuadro 5 Resultados de cafeína y ácidos clorogénicos para las 8 muestras de café

No.	Región	CAFEÍNA	ÁCIDOS CLOROGÉNICOS
		Concentración % (g/g) ($\bar{x} \pm$ desviación estándar)	Concentración % (g/g) ($\bar{x} \pm$ desviación estándar)
1	Highland Huehue	1.22 \pm 0.06	3.29 \pm 0.16
2	Volcanic San Marcos	1.27 \pm 0.01	3.12 \pm 0.01
3	Fraijanes Plateau	1.38 \pm 0.01	2.89 \pm 0.02
4	New Oriente	1.33 \pm 0.01	3.46 \pm 0.02
5	Traditional Atitlán	1.29 \pm 0.02	2.92 \pm 0.06
6	Acatenango Valley	1.33 \pm 0.004	3.10 \pm 0.06
7	Rainforest Cobán	1.17 \pm 0.01	3.72 \pm 0.22
8	Antigua Coffee	1.41 \pm 0.01	4.07 \pm 0.009

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 se utiliza para la determinación de antioxidantes fenólicos y mide la cantidad de fenoles totales que se van a necesitar para inhibir la oxidación del reactivo. Este análisis se realizó en duplicado. Según el Cuadro 6, se puede observar que el café que posee mayor cantidad de polifenoles es el de la región de Fraijanes Plateau, seguido por Rainforest Cobán, Acatenango Valley, Traditional Atitlán, New Oriente, Volcanic San Marcos, Highland Huehue y por último Antigua Coffee. Cabe destacar que Antigua Coffee 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 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 $\mu\text{g/ml}$, 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 6, se pudo encontrar que la región Rainforest Cobán posee mayor capacidad antioxidante, seguido por Acatenango Valley, Highland Huehue, Traditional Atitlán, Antigua Coffee, Volcanic San Marcos, New Oriente y por último Fraijanes Plateau. Se puede notar que Fraijanes Plateau posee la mayor cantidad de polifenoles disponibles, pero es probable que su capacidad antioxidante no sea tan potente como el resto de las muestras.

Cuadro 6 Resultados de polifenoles y capacidad antioxidante para las 8 muestras de café

No.	Región	POLIFENOLES	CAPACIDAD ANTIOXIDANTE
		Concentración % (g/g) ($\bar{x} \pm$ desviación estándar)	IC50 ($\mu\text{g/ml}$) ($\bar{x} \pm$ desviación estándar)
1	Highland Huehue	14.14 \pm 1.87	215.54 \pm 0.001
2	Volcanic San Marcos	14.92 \pm 3.04	229.75 \pm 0.001
3	Fraijanes Plateau	17.46 \pm 0.21	317.63 \pm 0.001
4	New Oriente	15.74 \pm 1.46	248.94 \pm 0.001
5	Traditional Atitlán	16.00 \pm 0.68	222.98 \pm 0.001
6	Acatenango Valley	16.39 \pm 0.98	191.34 \pm 0.001
7	Rainforest Cobán	16.69 \pm 0.70	159.60 \pm 0.001
8	Antigua Coffee	8.59 \pm 1.85	224.90 \pm 0.001

Para el análisis del pH, se utilizó un potenciómetro que fue calibrado con la solución buffer de pH 4.01 y 7.00. Según el Cuadro 7, se puede observar que los resultados de pH fueron bastante parecidos estando entre 5.52 y 5.69, por lo que no existió mucha variabilidad entre regiones

Cuadro 7 Resultados de pH para las 8 muestras de café.

No.	Región	pH ($\bar{x} \pm$ desviación estándar)
1	Highland Huehue	5.62 \pm 0.07
2	Volcanic San Marcos	5.61 \pm 0.02
3	Fraijanes Plateau	5.69 \pm 0.01

4	New Oriente	5.57 ± 0.07
5	Traditional Atitlán	5.62 ± 0.10
6	Acatenango Valley	5.66 ± 0.01
7	Rainforest Cobán	5.68 ± 0.00
8	Antigua Coffee	5.52 ± 0.02

El último análisis fue el de colorimetría y se realizó utilizando el colorímetro. Para realizar esta medición, se duplicó el peso y el volumen en cada uno de los extractos de café utilizados para obtener un mayor volumen y cubrir la totalidad de la celda. El aparato representó cada una de las muestras en una gráfica en donde el eje X estaba representado por la letra a*, siendo el lado derecho la tonalidad rojiza (+) y el lado izquierdo la tonalidad verde (-), y el eje Y representando por la letra b*, siendo el lado superior las tonalidades amarillas (+) y el lado inferior las tonalidades azules (-). De acuerdo al Cuadro 8 se puede observar que todos los datos obtenidos fueron positivos y se encontraron sobre las tonalidades amarillas, lo que indica que el color del café de cada región está entre las tonalidades amarillas. En cuanto a los valores de L* se debe resaltar que lo más importante es si estos valores son positivos o negativos, ya que los positivos significan una mayor luminiscencia hacia las tonalidades blancas y los negativos hacia las tonalidades negras respectivamente. Se observó que todas las muestras obtuvieron datos positivos siendo entonces una luminiscencia hacia tonalidades blancas.

Cuadro 8 Resultado de colorimetría para las 8 muestras de café

No.	Región	Valor L* ($\bar{x} \pm$ desviación estándar)	Valor a* ($\bar{x} \pm$ desviación estándar)	Valor b* ($\bar{x} \pm$ desviación estándar)
-----	--------	--------------------------------------------------	--------------------------------------------------	--------------------------------------------------

1	Highland Huehue	38.23 ± 0.07	2.45 ± 0.07	16.49 ± 0.21
2	Volcanic San Marcos	38.41 ± 0.02	2.37 ± 0.04	16.58 ± 0.22
3	Fraijanes Plateau	37.22 ± 0.01	2.73 ± 0.16	15.62 ± 0.43
4	New Oriente	35.85 ± 0.07	2.37 ± 0.12	14.14 ± 1.26
5	Traditional Atitlán	37.09 ± 0.10	2.36 ± 0.06	15.20 ± 0.00
6	Acatenango Valley	36.43 ± 0.01	2.36 ± 0.07	14.56 ± 0.92
7	Rainforest Cobán	35.71 ± 0.00	2.75 ± 0.07	13.89 ± 0.06
8	Antigua Coffee	38.84 ± 0.02	1.85 ± 0.03	16.46 ± 0.56

VIII. CONCLUSIONES

- 1- Se determinó que la región de Highland Huehue posee un porcentaje de concentración en peso de cafeína de 1.22 ± 0.06 % (g/g), ácidos clorogénicos de 3.29 ± 0.16 % (g/g), polifenoles de 14.14 ± 1.87 % (g/g), un valor de IC50 de capacidad antioxidante de 215.54 ± 0.001 (µg/ml), un pH de 5.62 ± 0.07 , y una tonalidad de color amarillo.
- 2- Se determinó que la región de Volcanic San Marcos posee un porcentaje de concentración en peso de cafeína de 1.27 ± 0.01 % (g/g), ácidos clorogénicos de 3.12 ± 0.01 % (g/g), polifenoles de 14.92 ± 3.04 % (g/g), un valor de IC50 de capacidad antioxidante de 229.75 ± 0.001 (µg/ml), un pH de 5.61 ± 0.02 y una tonalidad de color amarillo.
- 3- Fraijanes Plateau posee un porcentaje de concentración en peso de cafeína de 1.38 ± 0.01 % (g/g), ácidos clorogénicos de 2.89 ± 0.02 % (g/g), polifenoles de 17.46 ± 0.21 % (g/g), un valor de IC50 de capacidad antioxidante de 317.63 ± 0.001 (µg/ml), un pH de 5.69 ± 0.01 y una tonalidad de color amarillo.
- 4- New Oriente posee un porcentaje de concentración en peso de cafeína de 1.33 ± 0.01 % (g/g), ácidos clorogénicos de 3.46 ± 0.02 % (g/g), polifenoles de 15.74 ± 1.46 % (g/g), un valor de IC50 de capacidad antioxidante de 248.94 ± 0.001 (µg/ml), un pH de 5.57 ± 0.07 y una tonalidad de color amarillo.
- 5- Se determinó que la región de Traditional Atitlán posee un porcentaje de concentración en peso de cafeína de 1.29 ± 0.02 % (g/g), ácidos clorogénicos de 2.92 ± 0.06 % (g/g), polifenoles de 16.00 ± 0.68 % (g/g), un valor de IC50 de capacidad antioxidante de 222.98 ± 0.001 (µg/ml), un pH de 5.62 ± 0.10 y una tonalidad de color amarillo.
- 6- Se determinó que la región de Acatenango Valley posee un porcentaje de concentración en peso de cafeína de 1.33 ± 0.004 % (g/g), ácidos clorogénicos de 3.10 ± 0.06 % (g/g), polifenoles de 16.39 ± 0.70 % (g/g), un valor de IC50 de capacidad antioxidante de 191.34 ± 0.001 (µg/ml), un pH de 5.66 ± 0.01 y una tonalidad de color amarillo.
- 7- Rainforest Cobán posee un porcentaje de concentración en peso de cafeína de 1.17 ± 0.01 % (g/g), ácidos clorogénicos de 3.72 ± 0.22 % (g/g), polifenoles de 16.69 ± 0.70

- % (g/g), un valor de IC50 de capacidad antioxidante de 159.60 ± 0.001 ($\mu\text{g/ml}$), un pH de 5.68 ± 0.00 y una tonalidad de color amarillo.
- 8- Antigua Coffee posee un porcentaje de concentración en peso de cafeína de 1.41 ± 0.01 % (g/g), ácidos clorogénicos de 4.07 ± 0.00 % (g/g), polifenoles de 8.59 ± 1.85 % (g/g), un valor de IC50 de capacidad antioxidante de 224.90 ± 0.001 ($\mu\text{g/ml}$), un pH de 5.52 ± 0.02 y una tonalidad de color amarillo.
 - 9- El café de la región Antigua Coffee posee mayor cantidad de cafeína así como de ácidos clorogénicos, siendo estos valores de 1.41 ± 0.01 % (g/g) y 4.07 ± 0.00 % (g/g) respectivamente, y a su vez fue el que menor cantidad de polifenoles presentó con una total de 8.59 ± 1.85 % (g/g).
 - 10- El café que mayor capacidad antioxidante presentó fue el café de la región Rainforest Cobán y el de menor capacidad fue Fraijanes Plateau, con un valor de IC50 de 159.60 ± 0.001 $\mu\text{g/ml}$ y 317.63 ± 0.001 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente.
 - 11- Se observó que el valor de pH para todas las regiones se encontró entre 5.52 y 5.69
 - 12- Todas las muestras presentaron un color de tonalidad amarilla, además de mostrar ser una sustancia con luminosidad cercana a los tonos blancos.

IX. RECOMENDACIONES

- 1- Se recomienda realizar los análisis cada región de manera individual aplicándole diferentes tratamientos de tostado (leve, medio u obscuro), o un tipo de molienda en distintos métodos para así poder determinar las variaciones que se pueden presentar de acuerdo al tratamiento aplicado
- 2- Se recomienda realizar posteriores estudios de los mismos cafés de las ocho regiones de Guatemala pero en distintas cosechas en diferentes años para poder estudiar si existen cambios en los valores de cada una de las características analizadas en este estudio o si se mantienen constantes los valores.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. ANACAFÉ. 2011. *Los cafés de Guatemala*. Guatemala. Asociación Nacional del Café.
http://www.anacafe.org/glifos/index.php?title=BuenCafe_CafesdeGuatemala#Acatenango
2. Andueza, Susana; C. Cid y M. Nicoli. 2004. *Comparison of antioxidant and pro-oxidant activity in coffee beverages prepared with conventional and Torrefacto coffee*. España. Publicación Elsevier Ltd. Swiss Society of Food Science and Technology. Pag 1-2
3. Anese, Monica; M. Nicoli. 1997. *Antioxidant Properties of Ready-to-Drink Coffee*. Italia. Universidad de Udine, Via Marangoni. Departamento de Ciencia de los Alimentos
4. Baduí, Salvador. 2006. *Química de Alimentos*. México. Pearson Addison Wesley. Cuarta edición. Pág 499-500
5. Bekedam, Koen; *et al.* 2008. *Incorporation of Chlorogenic Acids in Coffee Brew Melanoidins*. Estados Unidos. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Volume 56, 2055-2063. Pág 1-2.
6. Belay, Abebe; *et al.* 2007. *Measurement of caffeine in coffee beans with UV/vis spectrometer*. Etiopía. Revista Food Chemistry. Editorial Elsevier. Pag 310-311
7. Bell, Leonard; C. Wetzal and A. Grand. 1997. *Caffeine content in coffee as influenced by grinding and brewing techniques*. Estados Unidos. Publicaciones Elsevier. Departamento de Nutrición y Ciencias de los Alimentos. Pág 1-2
8. Bello, José. 2008. *Ciencia Bromatológica: principios generales de los alimentos*. España. Ediciones Díaz de Santos. Pág 336-343

9. Campa, C; *et al.* 2004. *Qualitative relationship between caffeine and chlorogenic acid contents among wild Coffea species*. Francia. Publicaciones Elsevier. Química de Alimentos. Pág 1-2
10. Christian, Gary. 2009. *Química Analítica*. México. McGraw-Hill. Imprenta Litrográfica Ingramex. Pág 555, 556, 558, 604, 605-612
11. Coffee Trends. 2011. Estados Unidos de America. <http://baristahq.com/coffee-trends/>
12. Diccionario Etimológico. 2013. *Etimología de Café*. Chile. <http://etimologias.dechile.net/?cafe.->
13. El Cafetal. 2011. *Perfiles de Tueste y Sabor: dos elementos ligados a la calidad del café*. Guatemala. Colección 2011, Edición No. 28. Revista del Caficulto, ANACAFÉ. Pág 7-10
14. Farah, Adriana; C. Donangelo. 2006. *Phenolic compounds in coffee*. Brasil. Instituto de Química, Universidad de Janeiro. Pág 1-3
15. Farah, Adriana; *et al.* 2005. *Effecto of Roasting on the Formation of Chlorogenic Acid Lactones in Coffee*. Estados Unidos. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Volumen 53. Pág 1505-1506
16. Farah, Adriana; *et al.* 2006. *Chlorogenic Acis and Lactones in Regular and Water-Decaffeinated Arabica Coffee*. Brasil. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Volume 54. Pág 1-2
17. García, Edgar. 2010. *Variedades de café*. Guatemala. Asociación Nacional del Café ANACAFÉ. En línea: http://www.anacafe.org/glifos/index.php?title=Variedades_de_cafe
18. Gil, A. 2010. *Tratado de Nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos*. 2nda ed. Volumen II. España: Médica Panamericana. Pp 401-402.
19. Gil, Ángel. 2010. *Tratado de Nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos*. España. Tomo II . Editorial Médica Panamericana. Pág 343- 346.

20. González, Abraham. 2008. *Determinación del costo real en la siembra y cultivo de café pergamino*. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis. Pág 109-112. http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/03/03_3190.pdf
21. Guerra, Byron. 2004. *Experiencias del Manejo de las Enfermedades Fungosas Presentes en el Cultivo de Café en finca de pequeños Caficultores en la Aldea La Montaña, Moyuta, Jutiapa*. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis. Pág 3. http://www.biblioteca.usac.edu.gt/tesis/01/01_2061.pdf
22. Hunter, Richard; R. Harold. 1987. *The Measurement of Appearance*. Estados Unidos. 2da edición. John Wiley and Sons Inc. Pág 7-13
23. MINECO. 2010. *Café oro y pergamino*. Guatemala. <http://uim.mineco.gob.gt/documents/10438/17026/F2.pdf> (consultado 18-4-13)
24. Mullen, W; et al. 2011. *The Antioxidant and Chlorogenic Acid Profiles of Whole Coffee Fruits Are Influenced by the Extraction Procedures*. Estados Unidos. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Centro de Nutrición y Seguridad Alimentaria. Pág 1-9
25. Nursten, Harry. 2005. *The Maillard Reaction Chemistry, Biochemistry and Implications*. Inglaterra. The Royal Society of Chemistry. Pág 1-24
26. Shahidi, Fereidoon. 1997. *Natural Antioxidants*. Estados Unidos. Librería de la Publicación de Información en el Catálogo del Congreso. Pág 216-217.
27. Solá, Albert. 2010. *Tostado y molido del café*. <http://www.infocafes.com/descargas/biblioteca/18.pdf> (consultado 19-4-13)
28. The National Coffee Association of USA. 2011. *Aumento del consume de Café Gourmet, una tendencia a pesar de la incertidumbre económica*. Colombia. Edición No. 7. http://www.cafedecolombia.com/bb-fnc-es/index.php/comments/aumento_del_consumo_de_cafe_gourmet_una_tendencia_a_pesar_de_la_incertidumb/

29. Vaast, Philippe; *et al.* 2006. *Fruit thinning and shade improve bean characteristics and beverage quality of coffee* (*Coffea arabica* L.) under optimal conditions. Costa Rica. *Journal for the Science of Food and Agriculture*. Volumen 86. Pág 197-198
30. Wang, Niya; Y. Fu y L. Tak. 2011. *Feasibility Study on Chemometric Discrimination of Roasted Arabica Coffees by Solvent Extraction and Fourier Transform Infrared Spectroscopy*. Canadá, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Publicaciones ACS. Pág 3220
31. Yanagimoto, Kenchi; *et.al.* 2002. *Antioxidative Activity of Heterocyclic Compounds Found in Coffee Volatiles Produced by Maillard Reaction*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Estados Unidos. Páginas 5480-5484
32. Yanagimoto, Kenchi; *et.al.* 2003. *Antioxidative Activity of Fractions Obtained from Brewed Coffee*. Department of Environmental Toxicology. Estados Unidos. 5 páginas
33. Zumdahl, Steven. 2010. *Chemistry*. Sexta Edición. Cengage Learning. Estados Unidos. Página 647

XI. APÉNDICE

Imagen1 Curva de calibración obtenida a partir del método de cromatografía HPLC para la cafeína

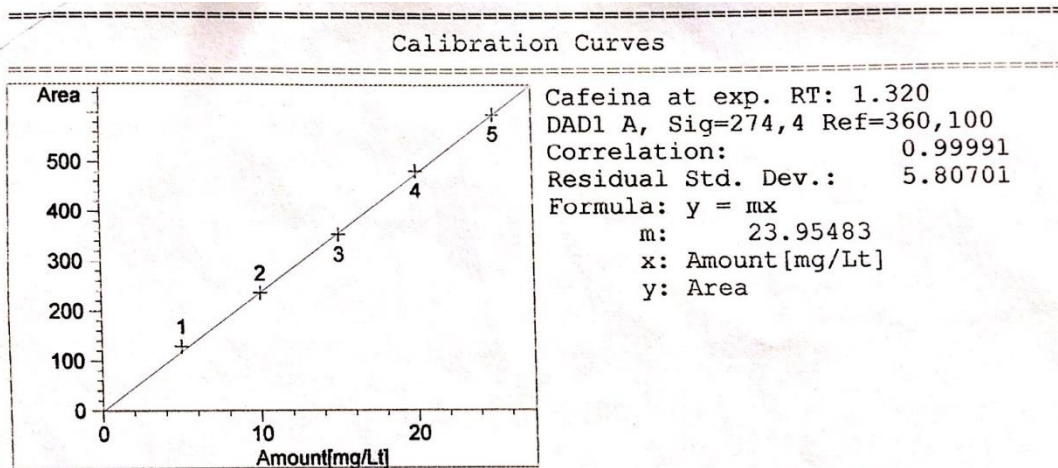


Imagen2 Curva de calibración obtenida a partir del método de cromatografía HPLC para los ácidos clorogénicos

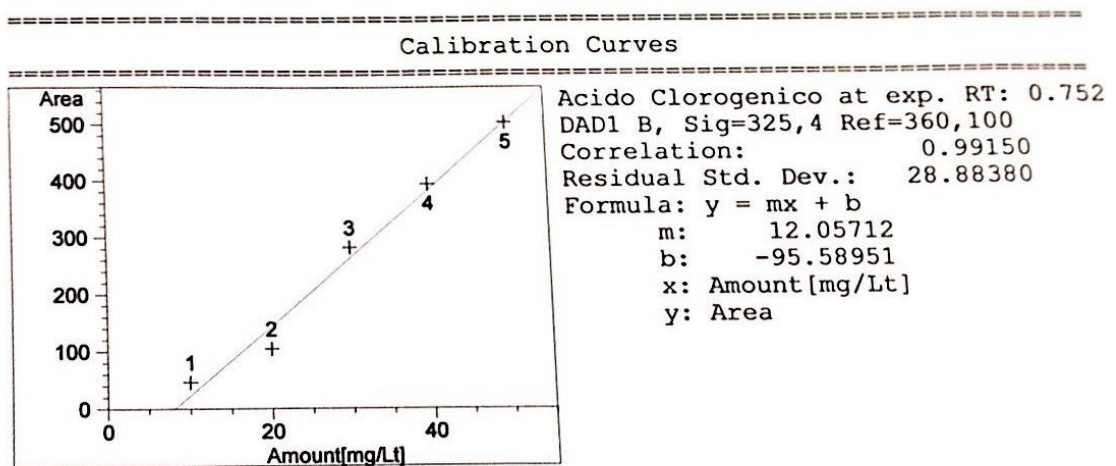


Imagen3 Curva de calibración por el método de absorbancia para polifenoles

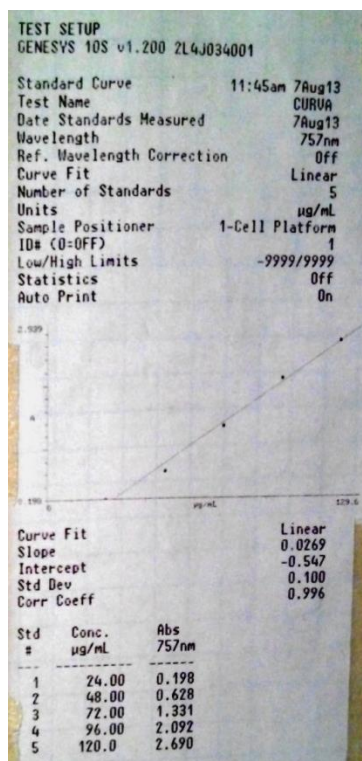
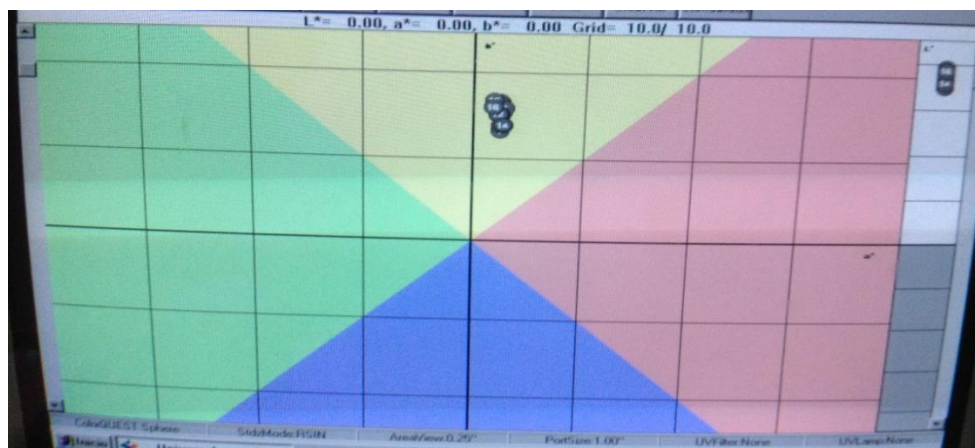


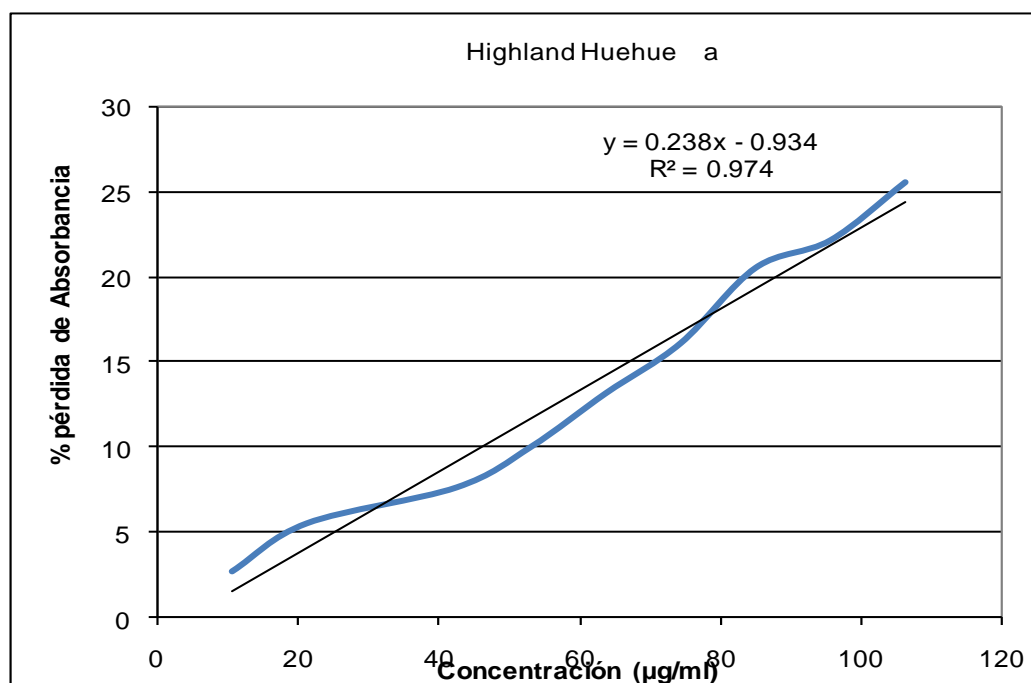
Imagen4 Análisis de color a partir del método de colorimetría para las 8 muestras de café en duplicado



Cuadro 9 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región Highland Huehue a

Tubo	Volumen de muestra (mL)	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración (µg/ml)	% pérdida de absorbancia	IC50 (µg/ml)
1	0.20	1.562	1.519	10.65000	2.75	214.00840
2	0.40	1.581	1.493	21.30000	5.57	
3	0.60	1.484	1.331	31.95000	10.31	
4	0.80	1.422	1.313	42.60000	7.67	
5	1.00	1.363	1.226	53.25000	10.05	
6	1.20	1.289	1.119	63.90000	13.19	
7	1.40	1.247	1.046	74.55000	16.12	
8	1.60	1.155	0.918	85.20000	20.52	
9	1.80	1.098	0.855	95.85000	22.13	
10	2.00	1.042	0.776	106.50000	25.53	

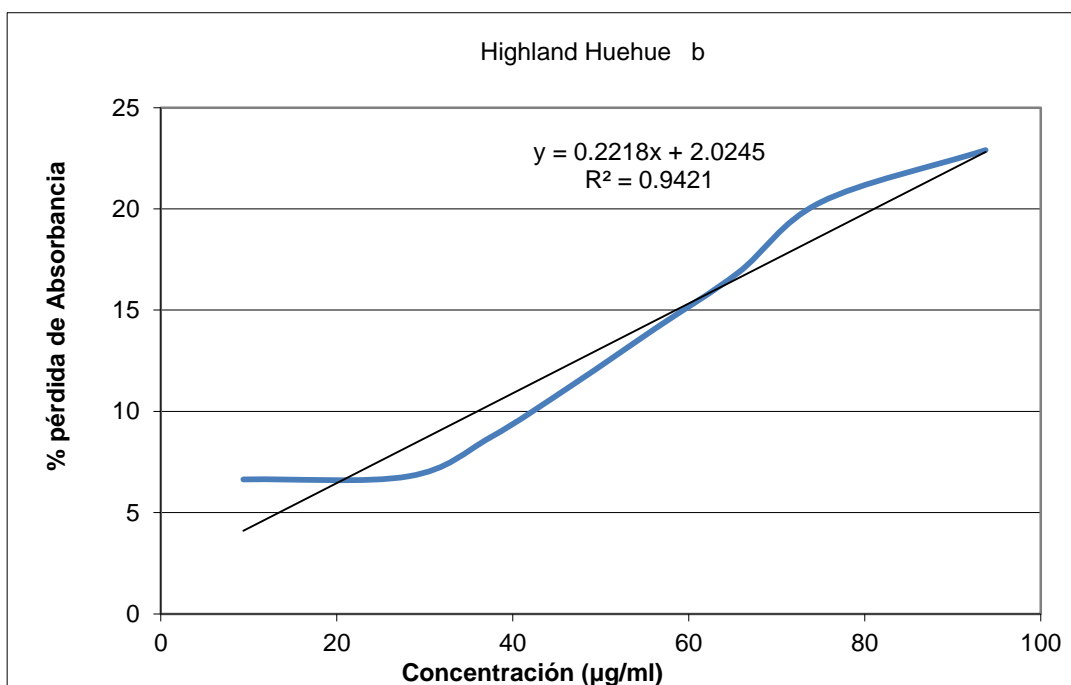
Figura 9 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región Highland Huehue a



Cuadro 10 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región Highland Huehue b

Tubo	Volumen de muestra (mL)	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración (µg/ml)	% pérdida de absorbancia	IC50 (µg/ml)
1	0.20	1.672	1.561	9.37500	6.64	217.08597
2	0.40	1.678	1.586	18.75000	5.48	
3	0.60	1.664	1.551	28.12500	6.79	
4	0.80	1.604	1.464	37.50000	8.73	
5	1.00	1.553	1.377	46.87500	11.33	
6	1.20	1.503	1.291	56.25000	14.11	
7	1.40	1.472	1.224	65.62500	16.85	
8	1.60	1.412	1.125	75.00000	20.33	
9	1.80	1.452	1.038	84.37500	28.51	
10	2.00	1.262	0.973	93.75000	22.90	

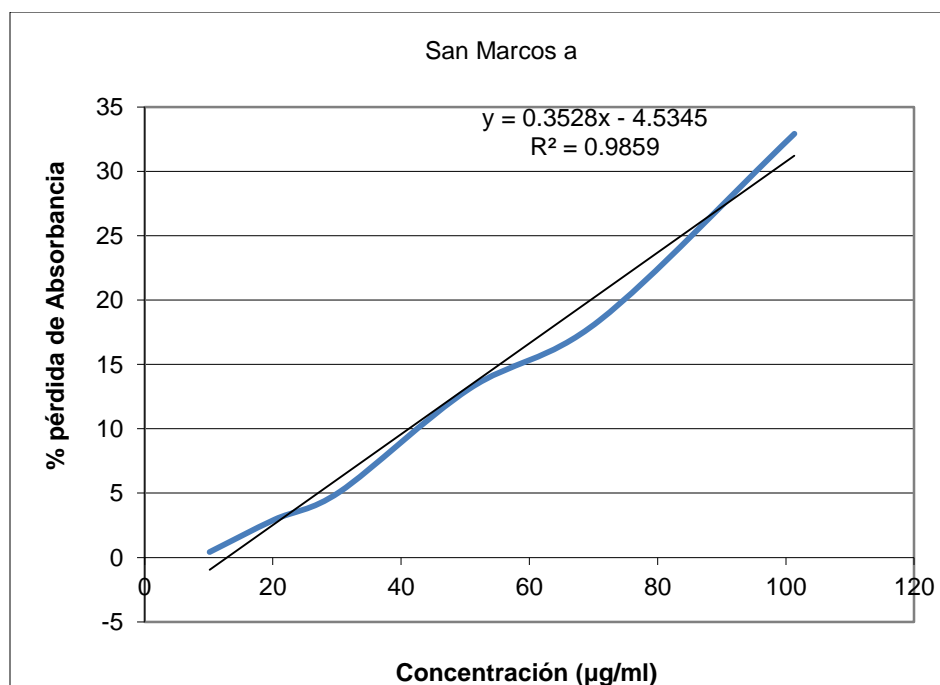
Figura 10 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región Highland Huehue b



Cuadro 11 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región San Marcos a

Tubo	Volumen de muestra (mL)	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración (µg/ml)	% pérdida de absorbancia	IC50 (µg/ml)
1	0.20	2.591	2.58	10.13333	0.42	154.92614
2	0.40	2.681	2.602	20.26667	2.95	
3	0.60	2.946	2.796	30.40000	5.09	
4	0.80	2.9	2.754	40.53333	5.03	
5	1.00	1.426	1.239	50.66667	13.11	
6	1.20	1.338	1.174	60.80000	12.26	
7	1.40	1.26	1.028	70.93333	18.41	
8	1.60	1.296	0.927	81.06667	28.47	
9	1.80	1.161	0.898	91.20000	22.65	
10	2.00	1.203	0.807	101.33333	32.92	

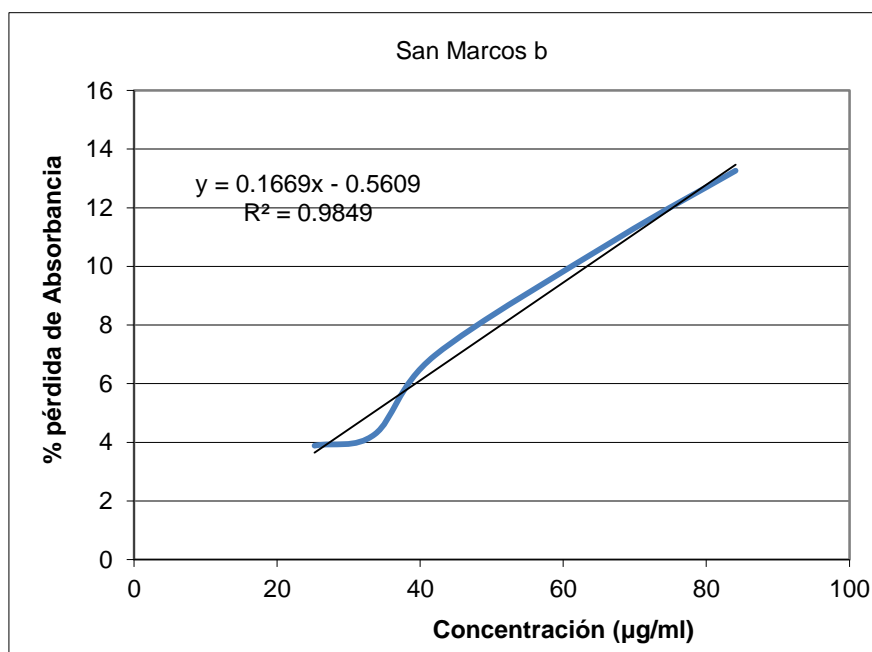
Figura 11 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región San Marcos a



Cuadro 12 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región San Marcos b

Tubo	Volumen de muestra (mL)	Absorbancia inicio	Absorbancia fin	Concentración (µg/ml)	% pérdida de absorbancia	IC50 (µg/ml)
1	0.20	1.599	1.633	8.40833	-2.13	304.57831
2	0.40	1.648	1.539	16.81667	6.61	
3	0.60	1.596	1.534	25.22500	3.88	
4	0.80	1.545	1.479	33.63333	4.27	
5	1.00	1.508	1.403	42.04167	6.96	
6	1.20	1.492	1.314	50.45000	11.93	
7	1.40	1.451	1.283	58.85833	11.58	
8	1.60	1.403	1.25	67.26667	10.91	
9	1.80	1.411	1.193	75.67500	15.45	
10	2.00	1.44	1.249	84.08333	13.26	

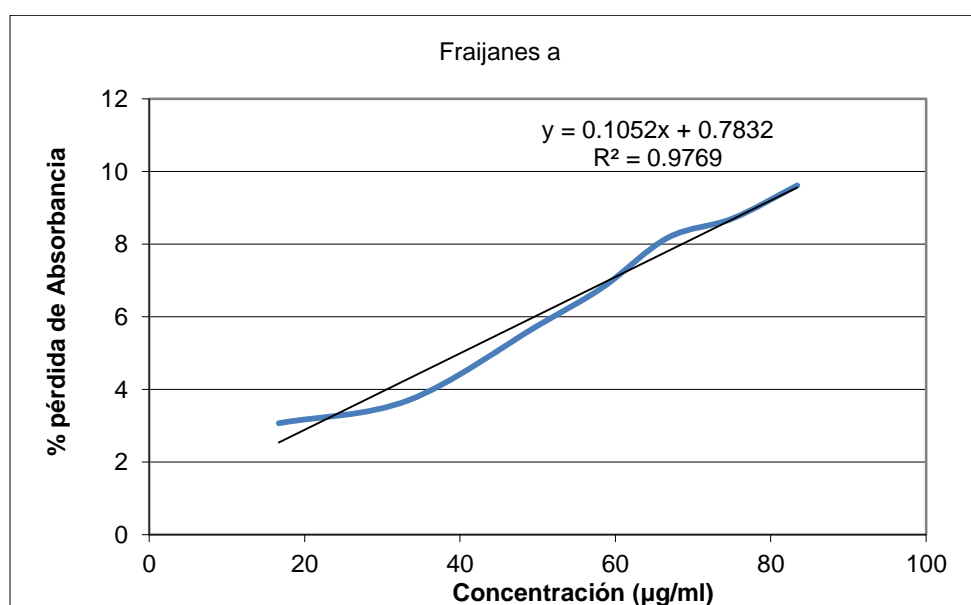
Figura 12 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región San Marcos b



Cuadro 13 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región Fraijanes Plateau a

Tubo	Volumen de muestra (mL)	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración ($\mu\text{g/ml}$)	% pérdida de absorbancia	IC50 ($\mu\text{g/ml}$)
1	0.20	1.509	1.526	8.34167	-1.13	468.73333
2	0.40	1.499	1.453	16.68333	3.07	
3	0.60	1.466	1.423	25.02500	2.93	
4	0.80	1.459	1.405	33.36667	3.70	
5	1.00	1.368	1.319	41.70833	3.58	
6	1.20	1.354	1.276	50.05000	5.76	
7	1.40	1.321	1.231	58.39167	6.81	
8	1.60	1.297	1.191	66.73333	8.17	
9	1.80	1.241	1.133	75.07500	8.70	
10	2.00	1.217	1.1	83.41667	9.61	

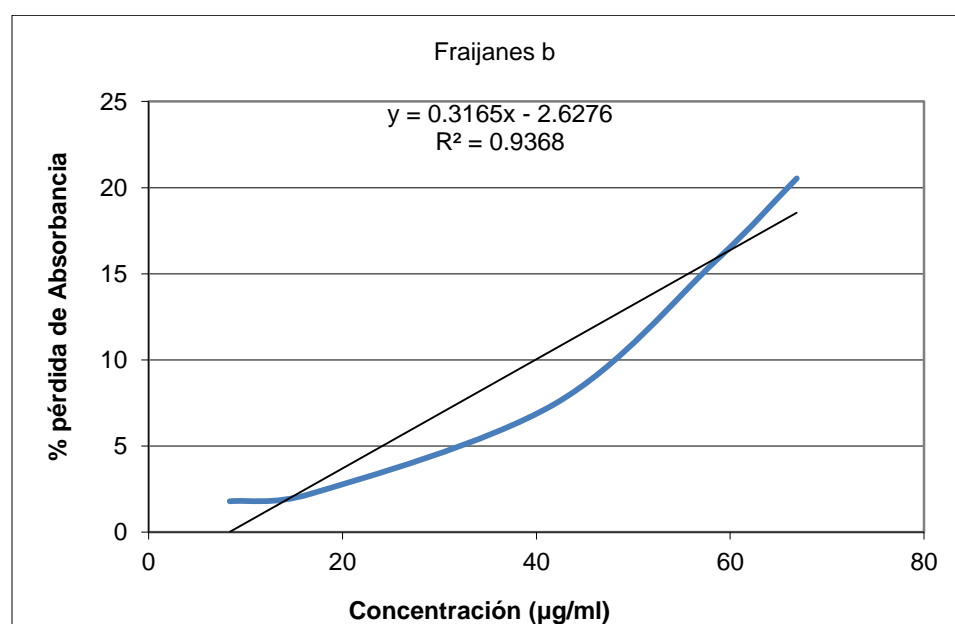
Figura 13 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región Fraijanes Plateau a



Cuadro 14 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región Fraijanes Plateau b

Tubo	Volumen de muestra (mL)	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración (µg/ml)	% pérdida de absorbancia	IC50 (µg/ml)
1	0.20	1.457	1.431	8.35833	1.78	166.54114
2	0.40	1.531	1.497	16.71667	2.22	
3	0.60	1.526	1.416	25.07500	7.21	
4	0.80	1.465	1.375	33.43333	6.14	
5	1.00	1.418	1.313	41.79167	7.40	
6	1.20	1.404	1.261	50.15000	10.19	
7	1.40	1.422	1.198	58.50833	15.75	
8	1.60	1.412	1.122	66.86667	20.54	
9	1.80	1.318	1.074	75.22500	18.51	
10	2.00	1.824	1.653	83.58333	9.38	

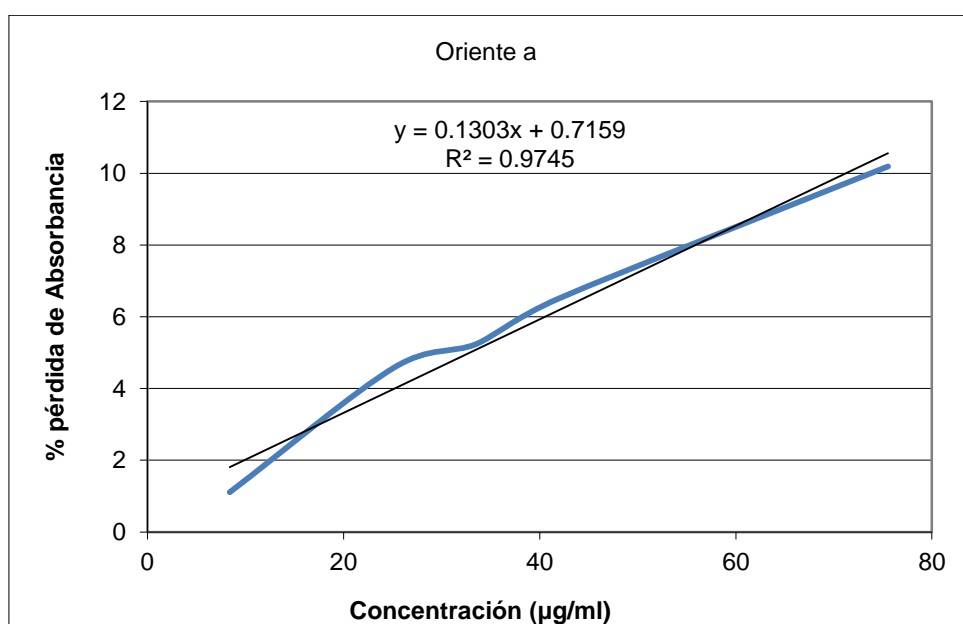
Figura 14 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región Fraijanes Plateau b



Cuadro 15 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región New Oriente a

Tubo	Volumen de muestra (mL)	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración ($\mu\text{g/ml}$)	% pérdida de absorbancia	IC50 ($\mu\text{g/ml}$)
1	0.20	1.443	1.427	8.39167	1.11	379.11538
2	0.40	1.46	1.359	16.78333	6.92	
3	0.60	1.439	1.373	25.17500	4.59	
4	0.80	1.373	1.301	33.56667	5.24	
5	1.00	1.321	1.235	41.95833	6.51	
6	1.20	1.971	1.97	50.35000	0.05	
7	1.40	1.917	1.856	58.74167	3.18	
8	1.60	1.869	1.81	67.13333	3.16	
9	1.80	1.776	1.595	75.52500	10.19	
10	2.00	1.73	1.632	83.91667	5.66	

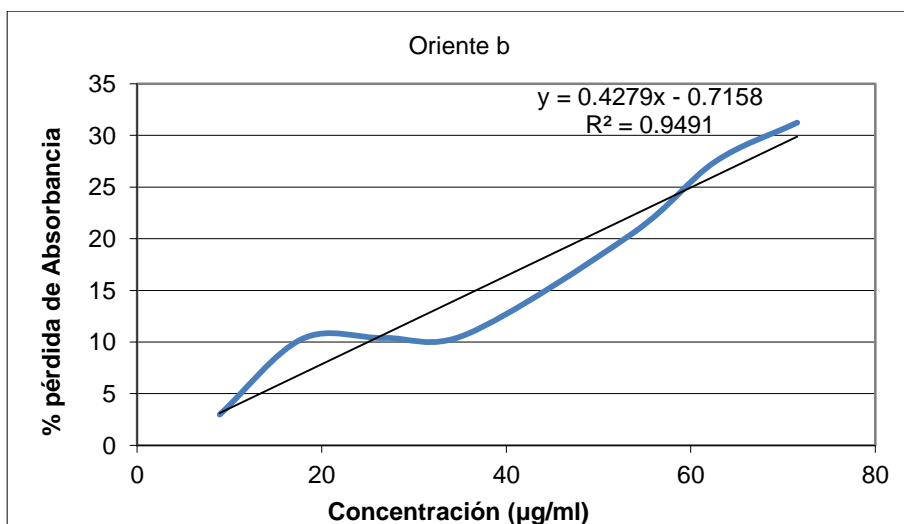
Figura 15 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región New Oriente a



Cuadro 16 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región New Oriente b

Tubo	Volumen de muestra (mL)	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración (µg/ml)	% pérdida de absorbancia	IC50 (µg/ml)
1	0.20	1.647	1.598	8.94167	2.98	118.77049
2	0.40	1.65	1.48	17.88333	10.30	
3	0.60	1.713	1.535	26.82500	10.39	
4	0.80	1.411	1.259	35.76667	10.77	
5	1.00	1.437	1.115	44.70833	22.41	
6	1.20	1.381	1.098	53.65000	20.49	
7	1.40	1.247	0.905	62.59167	27.43	
8	1.60	1.351	0.929	71.53333	31.24	
9	1.80	1.321	0.92	80.47500	30.36	
10	2.00	1.162	0.808	89.41667	30.46	

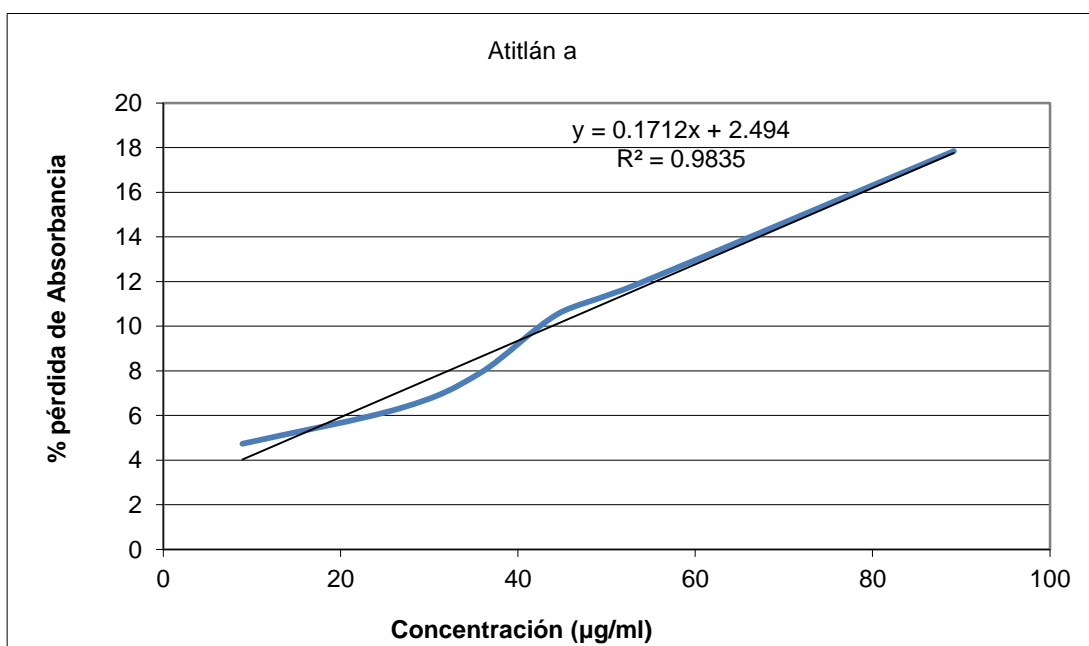
Figura 16 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región New Oriente b



Cuadro 17 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región Traditional Atitlán a

Tubo	Volumen de muestra (mL)	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración (µg/ml)	% pérdida de absorbancia	IC50 (µg/ml)
1	0.20	1.416	1.349	8.91667	4.73	277.81287
2	0.40	1.509	1.448	17.83333	4.04	
3	0.60	1.47	1.377	26.75000	6.33	
4	0.80	1.395	1.285	35.66667	7.89	
5	1.00	1.325	1.185	44.58333	10.57	
6	1.20	1.287	1.134	53.50000	11.89	
7	1.40	1.001	0.845	62.41667	15.58	
8	1.60	1.253	1.071	71.33333	14.53	
9	1.80	1.179	0.967	80.25000	17.98	
10	2.00	1.093	0.898	89.16667	17.84	

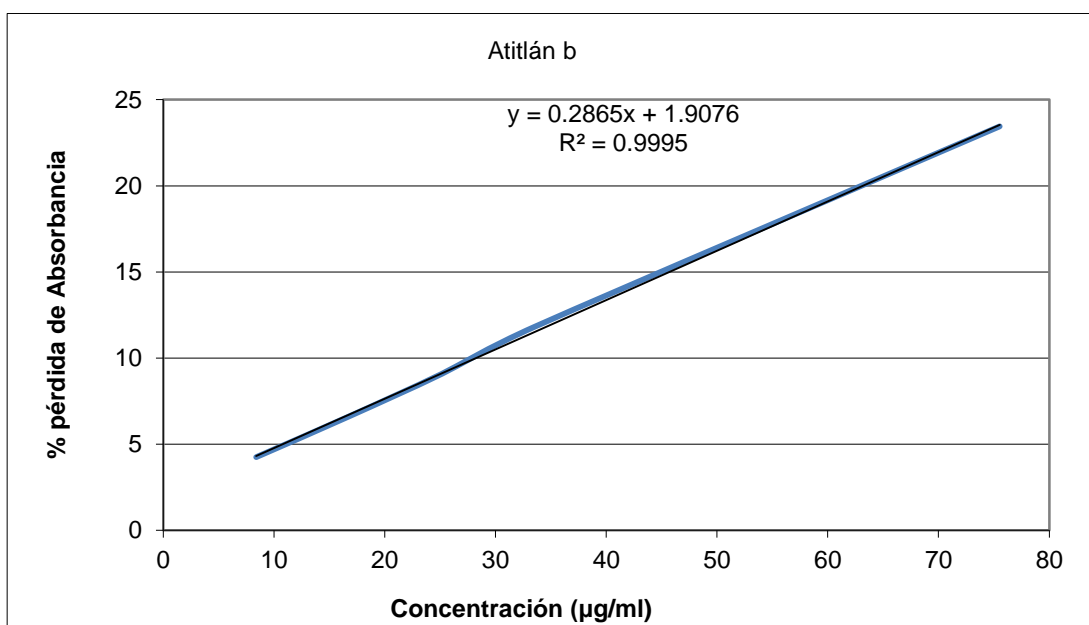
Figura 17 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región Traditional Atitlán a



Cuadro 18 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región Traditional Atitlán b

Tubo	Volumen de muestra (mL)	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración (µg/ml)	% pérdida de absorbancia	IC50 (µg/ml)
1	0.20	1.65	1.58	8.39167	4.24	168.15734
2	0.40	1.513	1.413	16.78333	6.61	
3	0.60	1.596	1.451	25.17500	9.09	
4	0.80	1.548	1.365	33.56667	11.82	
5	1.00	1.471	1.33	41.95833	9.59	
6	1.20	1.394	1.254	50.35000	10.04	
7	1.40	1.382	1.208	58.74167	12.59	
8	1.60	1.397	1.107	67.13333	20.76	
9	1.80	1.356	1.038	75.52500	23.45	
10	2.00	1.23	1.008	83.91667	18.05	

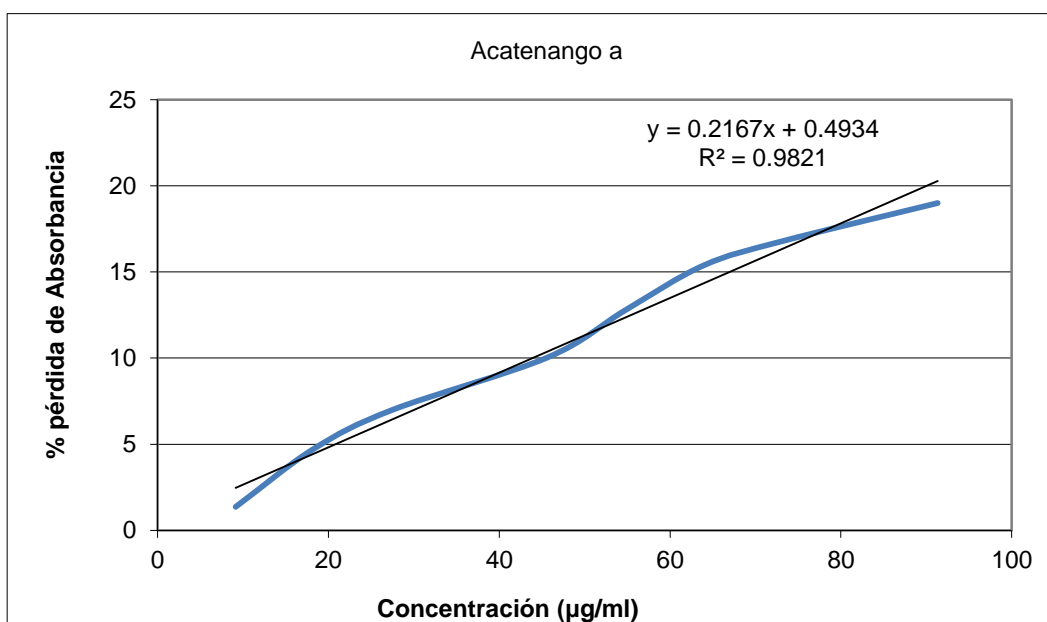
Figura 18 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región Traditional Atitlán b



Cuadro 19 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región Acatenango a

Tubo	Volumen de muestra (mL)	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración (µg/ml)	% pérdida de absorbancia	IC50 (µg/ml)
1	0.20	1.69	1.667	9.13333	1.36	229.19907
2	0.40	1.693	1.613	18.26667	4.73	
3	0.60	1.677	1.56	27.40000	6.98	
4	0.80	1.469	1.31	36.53333	10.82	
5	1.00	1.444	1.299	45.66667	10.04	
6	1.20	1.399	1.22	54.80000	12.79	
7	1.40	1.365	1.155	63.93333	15.38	
8	1.60	1.317	1.096	73.06667	16.78	
9	1.80	1.271	1.025	82.20000	19.35	
10	2.00	1.226	0.993	91.33333	19.00	

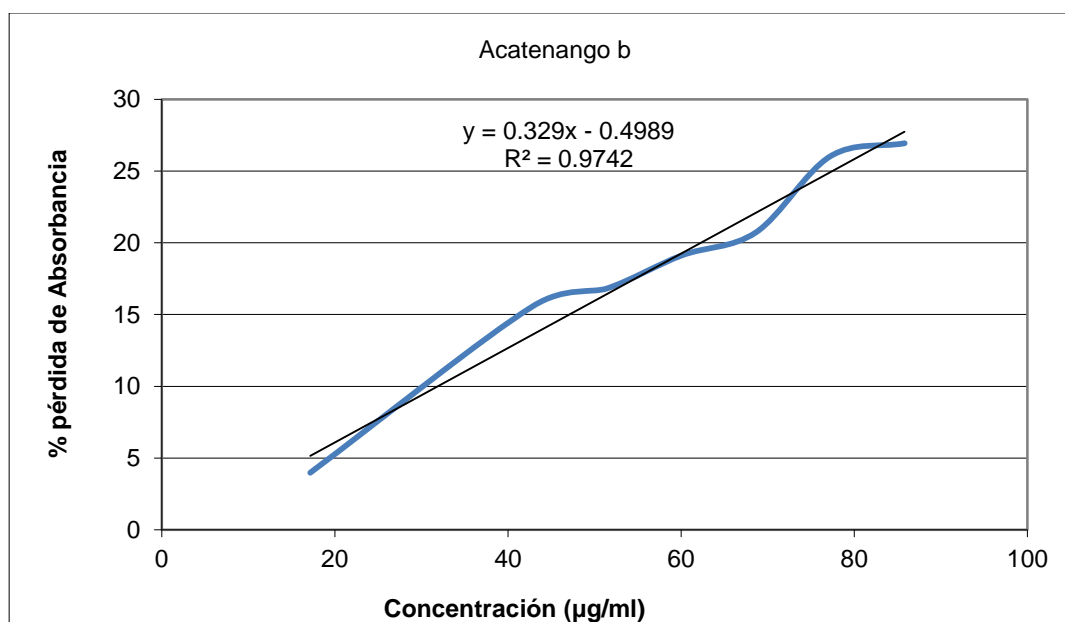
Figura 19 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región Acatenango a



Cuadro 20 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región Acatenango b

Tubo	Volumen de muestra (mL)	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración (µg/ml)	% pérdida de absorbancia	IC50 (µg/ml)
1	0.20	1.545	1.54	8.58333	0.32	153.48936
2	0.40	1.559	1.497	17.16667	3.98	
3	0.60	1.585	1.343	25.75000	15.27	
4	0.80	1.568	1.279	34.33333	18.43	
5	1.00	1.475	1.245	42.91667	15.59	
6	1.20	1.444	1.201	51.50000	16.83	
7	1.40	1.412	1.142	60.08333	19.12	
8	1.60	1.394	1.105	68.66667	20.73	
9	1.80	1.31	0.969	77.25000	26.03	
10	2.00	1.277	0.933	85.83333	26.94	

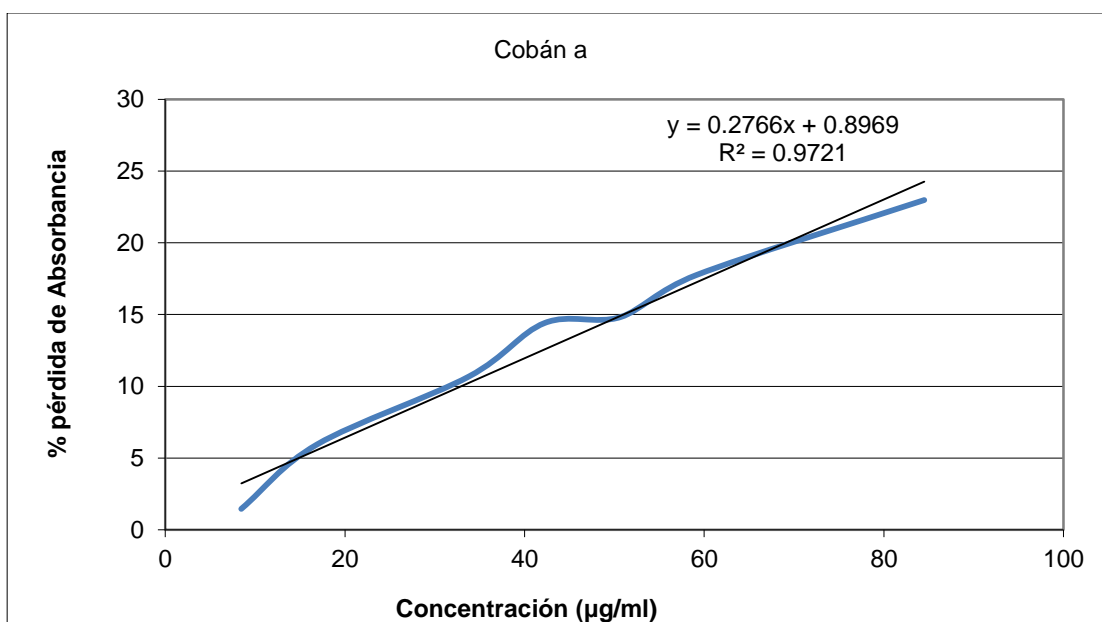
Figura 20 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región Acatenango b



Cuadro 21 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región Rainforest Cobán a

Tubo	Volumen de muestra (mL)	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración (µg/ml)	% pérdida de absorbancia	IC50 (µg/ml)
1	0.20	1.579	1.556	8.45000	1.46	177.91304
2	0.40	1.596	1.501	16.90000	5.95	
3	0.60	1.513	1.416	25.35000	6.41	
4	0.80	1.507	1.346	33.80000	10.68	
5	1.00	1.429	1.223	42.25000	14.42	
6	1.20	1.369	1.166	50.70000	14.83	
7	1.40	1.312	1.079	59.15000	17.76	
8	1.60	1.274	0.979	67.60000	23.16	
9	1.80	1.205	0.972	76.05000	19.34	
10	2.00	1.175	0.905	84.50000	22.98	

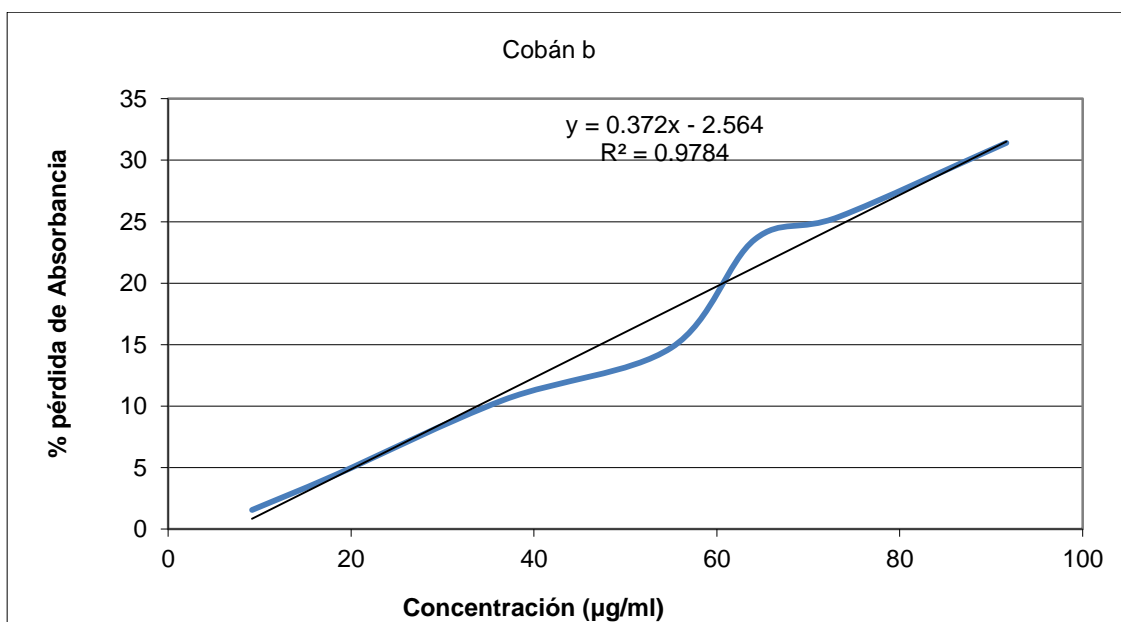
Figura 21 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región Rainforest Cobán a



Cuadro 22 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región Rainforest Cobán b

Tubo	Volumen de muestra (mL)	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración (µg/ml)	% pérdida de absorbancia	IC50 (µg/ml)
1	0.20	1.535	1.511	9.16667	1.56	141.30108
2	0.40	1.626	1.554	18.33333	4.43	
3	0.60	1.625	1.405	27.50000	13.54	
4	0.80	1.228	1.099	36.66667	10.50	
5	1.00	1.157	1.03	45.83333	10.98	
6	1.20	1.146	0.977	55.00000	14.75	
7	1.40	1.137	0.869	64.16667	23.57	
8	1.60	1.083	0.808	73.33333	25.39	
9	1.80	0.999	0.682	82.50000	31.73	
10	2.00	0.971	0.666	91.66667	31.41	

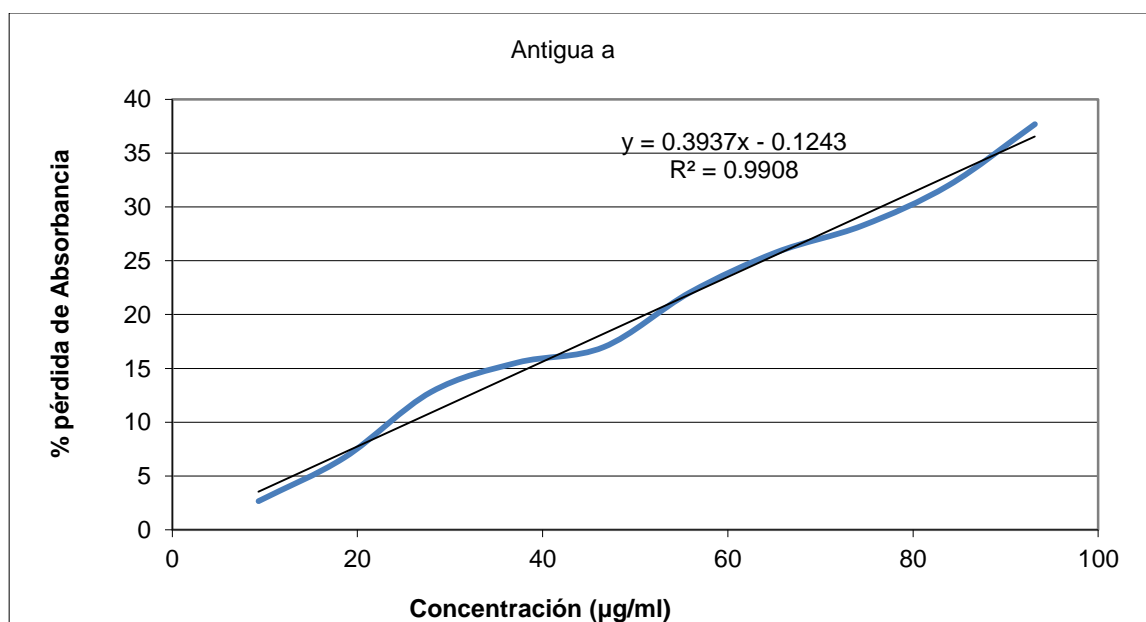
Figura 22 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región Rainforest Cobán b



Cuadro 23 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región Antigua a

Tubo	Volumen de muestra (mL)	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración (µg/ml)	% pérdida de absorbancia	IC50 (µg/ml)
1	0.20	1.24	1.207	9.31667	2.66	127.54198
2	0.40	1.232	1.149	18.63333	6.74	
3	0.60	1.226	1.069	27.95000	12.81	
4	0.80	1.165	0.984	37.26667	15.54	
5	1.00	1.084	0.9	46.58333	16.97	
6	1.20	1.034	0.806	55.90000	22.05	
7	1.40	0.997	0.74	65.21667	25.78	
8	1.60	0.973	0.698	74.53333	28.26	
9	1.80	0.906	0.616	83.85000	32.01	
10	2.00	0.857	0.534	93.16667	37.69	

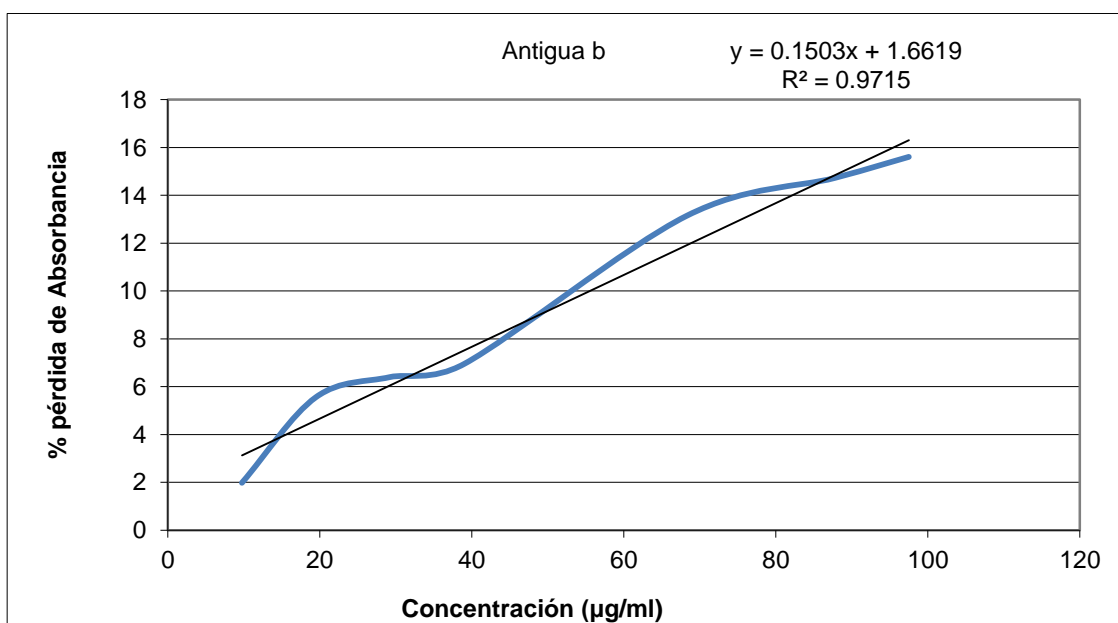
Figura 23 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región Antigua a



Cuadro 24 Datos obtenidos para la determinación de la capacidad antioxidante para la región Antigua b

Tubo	Volumen de muestra (mL)	Absorbancia inicial	Absorbancia final	Concentración (µg/ml)	% pérdida de absorbancia	IC50 (µg/ml)
1	0.20	1.515	1.485	9.75000	1.98	322.26000
2	0.40	1.51	1.426	19.50000	5.56	
3	0.60	1.468	1.374	29.25000	6.40	
4	0.80	1.424	1.325	39.00000	6.95	
5	1.00	1.399	1.233	48.75000	11.87	
6	1.20	1.352	1.174	58.50000	13.17	
7	1.40	1.286	1.117	68.25000	13.14	
8	1.60	1.211	0.952	78.00000	21.39	
9	1.80	1.195	1.019	87.75000	14.73	
10	2.00	1.134	0.957	97.50000	15.61	

Figura 24 Curva para la determinación de la ecuación y la obtención del IC50 para la región Antigua b



Cuadro 25 Características de origen de las muestras

Identificación en bolsa	Origen	Época de cosecha	Altitud (m)	Suelo	Influencia principal sobre el microclima	Temperatura promedio °C
Rainforest Cobán	Cobán	Diciembre-Marzo	1300-1500	Piedra caliza, arcilla	Océano Atlántico	15-20
Traditional Atitlán	Atitlán	Diciembre-Marzo	1500-1700	Volcánico	Lago grande en un cráter	20-23
Volcanic San Marcos	San Marcos	Diciembre-Marzo	1400-1800	Volcánico	Océano Pacífico	21-27
Antigua Coffee	Antigua	Enero-Marzo	1500-1700	Volcánica con piedra pómez	Valle encerrado	18-22
Fraijanes Plateau	Fraijanes	Diciembre-Febrero	1400-1800	Volcánica con piedra pómez	Planicies altas	12-26
Acatenango Valley	Acatenango	Diciembre-Marzo	1300-2000	Volcánica con piedra pómez	Volcanes Acatenango y Fuego	14-31
New Oriente	Nuevo Oriente	Diciembre-Marzo	1300-1700	Metamórfico y arcilloso	Océano Atlántico	18-25
Highland Huehue	Huehuetenango	Enero-Abril	1500-2000	Piedra caliza	Planicies de Tehuantepec	21-27