

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

FACULTAD DE INGENIERÍA



DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS  
FISICOQUÍMICAS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN TRES  
PREPARACIONES DE BEBIDAS DE CAFÉ: PERCOLADO,  
HERVIDO Y EXPRESO

Trabajo de graduación presentado por  
Conrado Ducas Castilla  
para optar al grado académico de  
Licenciado en Ingeniería en Ciencias de los Alimentos

Guatemala  
2013



**DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS  
FISICOQUÍMICAS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN TRES  
PREPARACIONES DE BEBIDAS DE CAFÉ: PERCOLADO,  
HERVIDO Y EXPRESO**

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

FACULTAD DE INGENIERÍA



DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS  
FISICOQUÍMICAS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN TRES  
PREPARACIONES DE BEBIDAS DE CAFÉ: PERCOLADO,  
HERVIDO Y EXPRESO

Trabajo de graduación presentado por  
Conrado Ducas Castilla  
para optar al grado académico de  
Licenciatura en Ingeniería en Ciencias de los Alimentos

Guatemala  
2013

**Vo. Bo:**

(f) Ana Luisa de Montenegro

Licenciada Ana Luisa Mendizábal de Montenegro

**Tribunal:**

(f) Ana Silvia Colmenares de Ruiz

Licenciada Ana Silvia Colmenares de Ruiz

(f) Patricia de Palomo

Licenciada Patricia Palacios de Palomo

(f) Ana Luisa de Montenegro

Licenciada Ana Luisa Mendizábal de Montenegro

Fecha de aprobación: Guatemala 02 de diciembre del 2013

# ÍNDICE

LISTA DE CUADROS .....	III
LISTA DE FIGURAS .....	V
LISTA DE IMÁGENES.....	VII
RESUMEN.....	VIII
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	3
A. Consumo de café a Nivel Mundial .....	3
B. Consumo de café en Guatemala.....	6
C. Regiones de café en Guatemala .....	7
D. Capacidad antioxidante del café.....	8
E. Ácidos clorogénicos en el café.....	10
F. Cafeína en el café.....	12
III. MARCO TEÓRICO .....	15
A. Antioxidantes.....	15
B. Polifenoles .....	17
C. Ácidos clorogénicos .....	19
D. Cafeína .....	21
E. Cromatografía HPLC (High Performance Liquid Chromatography) .....	22
F. DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) .....	25
G. Pardeamiento No Enzimático .....	26
H. pH.....	31
I. Colorimetría.....	33
J. Bebidas de café.....	35
IV. JUSTIFICACIÓN .....	38
V. OBJETIVOS.....	40

A. General .....	40
B. Específicos.....	40
VI. MATERIALES Y METODOLOGÍA .....	41
A. Muestras de café .....	41
B. Preparación de las muestras de café.....	41
C. Determinación de cafeína y ácidos clorogénicos .....	42
D. Determinación de pH y colorimetría .....	43
E. Determinación de capacidad antioxidante por Método de DPPH .....	44
F. Determinación de polifenoles .....	47
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	50
VIII. CONCLUSIONES .....	60
IX. RECOMENDACIONES.....	61
X. BIBLIOGRAFÍA.....	62
XI. ANEXOS .....	65

## LISTA DE CUADROS

Cuadro No. 1: Diluciones de muestras de café para la elaboración del análisis con HPLC. ....	43
Cuadro No. 2: Volumen de muestra de café hervido, metanol y DPPH para análisis. ....	45
Cuadro No. 3: Volumen de muestra de café percolado, metanol y DPPH para análisis. ....	45
Cuadro No. 4: Volumen de muestra de café expreso, metanol y DPPH para análisis. ....	46
Cuadro No. 5: Volúmenes de soluciones para elaboración de curva estándar. ....	48
Cuadro No. 6: Diluciones utilizadas para la preparación de las muestras de acuerdo al tipo de extracto. ....	48
Cuadro No. 7: Concentración de cafeína, ácidos clorogénicos y polifenoles del café de las 8 regiones. ....	52
Cuadro No. 8: Capacidad antioxidante del café de las 8 regiones extraído por los métodos de hervido, percolado y expreso. ....	55
Cuadro No. 9: Valores promedio de pH para el café de las 8 regiones de acuerdo al método de extracción. ....	56
Cuadro No. 10: Valores de colorimetría obtenidos para las muestras de café de las 8 regiones obtenidas por el método de hervido. ....	57
Cuadro No. 11: Valores de colorimetría obtenidos para las muestras de café de las 8 regiones obtenidas por el método de percolado. ....	57
Cuadro No. 12: Valores de colorimetría obtenidos para las muestras de café de las 8 regiones obtenidas por el método de expreso. ....	58
Cuadro No. 13: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Huehuetenango elaborado por el método de hervido. ....	69
Cuadro No. 14: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de San Marcos elaborado por el método de hervido. ....	70
Cuadro No. 15: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Fraijanes elaborado por el método de hervido. ....	71
Cuadro No. 16: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Nuevo Oriente elaborado por el método de hervido. ....	72
Cuadro No. 17: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Atitlán elaborado por el método de hervido. ....	73
Cuadro No. 18: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Acatenango elaborado por el método de hervido. ....	74
Cuadro No. 19: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Cobán elaborado por el método de hervido. ....	75
Cuadro No. 20: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Antigua elaborado por el método de hervido. ....	76

Cuadro No. 21: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Huehuetenango elaborado por el método de percolado. ....	77
Cuadro No. 22: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de San Marcos elaborado por el método de percolado. ....	78
Cuadro No. 23: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Fraijanes elaborado por el método de percolado. ....	79
Cuadro No. 24: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Nuevo Oriente elaborado por el método de percolado. ....	80
Cuadro No. 25: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Atitlán elaborado por el método de percolado. ....	81
Cuadro No. 26: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Acatenango elaborado por el método de percolado. ....	82
Cuadro No. 27: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Cobán elaborado por el método de percolado. ....	83
Cuadro No. 28: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Antigua elaborado por el método de percolado. ....	84
Cuadro No. 29: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Huehuetenango elaborado por el método de expreso. ....	85
Cuadro No. 30: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de San Marcos elaborado por el método de expreso. ....	86
Cuadro No. 31: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Fraijanes elaborado por el método de expreso. ....	87
Cuadro 32: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Nuevo Oriente elaborado por el método de expreso. ....	88
Cuadro No. 33: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Atitlán elaborado por el método de expreso. ....	89
Cuadro No. 34: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Acatenango elaborado por el método de expreso. ....	90
Cuadro No. 35: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Cobán elaborado por el método de expreso. ....	91
Cuadro No. 36: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Antigua elaborado por el método de expreso. ....	92
Cuadro No. 37: Características de origen de las muestras de café de las 8 regiones. ....	93

## LISTA DE FIGURAS

Figura No. 1: Consumo de café en taza en Estados Unidos en los años 2010 y 2011.....	4
Figura No. 2: Mecanismo de autooxidación y propagación de radicales libres. ....	16
Figura No. 3: Mecanismo de interferencia de antioxidantes en la autooxidación y propagación de radicales libres.....	17
Figura No. 4: Clasificación de compuestos fenólicos.....	18
Figura No. 5: Ácidos cinámicos. ....	18
Figura No. 6: Estructuras de los principales hidroxycinamatos en muestras de café. ....	20
Figura No. 7: Estructura química de la cafeína. ....	22
Figura No. 8: Mecanismo de reacción de los antioxidantes con el radical DPPH.....	25
Figura No. 9: Mecanismo de reacción de Maillard.....	30
Figura No. 10: Escala de pH.....	32
Figura No. 11: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Huehuetenango elaborado por el método de hervido. ....	69
Figura No. 12: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de San Marcos elaborado por el método de hervido.....	70
Figura No. 13: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Fraijanes elaborado por el método de hervido.....	71
Figura No. 14: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Nuevo Oriente elaborado por el método de hervido.....	72
Figura No. 15: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Atitlán elaborado por el método de hervido. ....	73
Figura No. 16: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Acatenango elaborado por el método de hervido. ....	74
Figura No. 17: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Cobán elaborado por el método de hervido. ....	75
Figura No. 18: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Antigua elaborado por el método de hervido.....	76
Figura No. 19: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Huehuetenango elaborado por el método de percolado.....	77
Figura No. 20: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de San Marcos elaborado por el método de percolado.....	78
Figura No. 21: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Fraijanes elaborado por el método de percolado. ....	79
Figura No. 22: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Nuevo Oriente elaborado por el método de percolado. ....	80

Figura No. 23: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Atitlán elaborado por el método de percolado.....	81
Figura No. 24: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Acatenango elaborado por el método de percolado. ....	82
Figura No. 25: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Cobán elaborado por el método de percolado.....	83
Figura No. 26: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Antigua elaborado por el método de percolado. ....	84
Figura No. 27: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Huehuetenango elaborado por el método de expreso. ....	85
Figura No. 28: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de San Marcos elaborado por el método de expreso. ....	86
Figura No. 29: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Fraijanes elaborado por el método de expreso.....	87
Figura 30: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Nuevo Oriente elaborado por el método de expreso.....	88
Figura No. 31: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Atitlán elaborado por el método de expreso. ....	89
Figura No. 32: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Acatenango elaborado por el método de expreso. ....	90
Figura No. 33: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Cobán elaborado por el método de expreso.....	91
Figura No. 34: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Antigua elaborado por el método de expreso. ....	92

## LISTA DE IMÁGENES

Imagen No. 1: Arreglos de los colores en el círculo matiz. ....	33
Imagen No. 2: Arreglo de la superficie de los colores en matiz y saturación.....	34
Imagen No. 3: Sólido de color matiz-saturación-luminosidad. ....	35
Imagen No. 4: Sólido tridimensional de colores contrarios.....	35
Imagen No. 5: Curva de calibración obtenida por cromatografía HPLC para cafeína. ....	65
Imagen No. 6: Curva de calibración obtenida por cromatografía HPLC para ácidos clorogénicos.....	65
Imagen No. 7: Curva de calibración obtenida para la determinación de concentración de polifenoles.....	66
Imagen No. 8: Distribución de muestras de café hervido en el análisis de colorimetría. ....	67
Imagen No. 9: Distribución de muestras de café percolado en el análisis de colorimetría.....	67
Imagen No. 10: Distribución de muestras de café expreso en el análisis de colorimetría.....	68

## RESUMEN

En el presente trabajo el objetivo principal fue realizar los análisis del contenido de cafeína, ácidos clorogénicos y capacidad antioxidante de café proveniente de las 8 regiones establecidas de Guatemala en tres preparaciones diferentes, café hervido, percolado y expreso. Para la realización de este proyecto se llevó a cabo un análisis de pH, de color por colorimetría y de determinación de cafeína y ácidos clorogénicos por cromatografía líquida de alta presión (HPLC). Para la determinación de la capacidad antioxidante se utilizó el método de DPPH y catecol para polifenoles. Al término de los análisis se pudo determinar el método de extracción que ofrecía mayor cantidad de estas propiedades, además de poder cuantificar la concentración de cada compuesto en cada café de las 8 regiones diferentes. Se pudo concluir que el método que ofreció mayor contenido de cafeína fue el de expreso; el método que presentó mayor contenido de ácidos clorogénicos y polifenoles fue el hervido; y el que presentó mayor capacidad antioxidante fue el método de percolado.

# I. INTRODUCCIÓN

El café es una de las bebidas más consumidas alrededor de todo el mundo y existen preparaciones distintas en las que se extrae el café con el objetivo de satisfacer un gusto o el paladar. Las bebidas a base de café han cobrado cierta popularidad en la actualidad y sus distintas preparaciones, como hervido, percolado y expreso, ofrecen variedades para todo el público consumidor. El café posee propiedades que hasta hace algunos años se empezaron a estudiar y que en la actualidad se consideran de beneficio para los consumidores. Estas propiedades que se mencionan son: los efectos de la cafeína, los cuales han sido estudiados pero ahora se tratan de relacionar con el contenido de otros compuestos con actividad antioxidante; los efectos de los ácidos clorogénicos, los cuales poseen actividad antioxidante y ofrecen grandes beneficios para los consumidores.

Guatemala es un país productor de café y cuenta con 8 regiones productoras delimitadas por Anacafé (Asociación Nacional del Café) de las cuales se obtuvo una muestra y se aplicaron análisis fisicoquímicos y cuantificación de las propiedades de contenido de cafeína, ácidos clorogénicos y polifenoles, determinación de capacidad antioxidante, pH y análisis del color. Esto se realizó con la finalidad de conocer estas propiedades de los cafés de las 8 regiones en una taza elaborada por diferentes métodos de preparación.

Para esto se utilizaron muestras de café de las regiones de: Huehuetenango, San Marcos, Fraijanes, Nuevo Oriente, Atitlán, Acatenango, Cobán y Antigua. Las extracciones se realizaron por métodos de hervido, percolado y expreso. Se analizó la concentración de cafeína y ácidos clorogénicos por medio de cromatografía HPLC. El contenido de polifenoles y capacidad antioxidante se determinó por medio de espectrofotometría utilizando reactivo Folin-Ciocalteu y DPPH, respectivamente. Para el análisis de pH se utilizó un potenciómetro y en el caso del análisis de colorimetría se utilizó el método de HunterLab con un colorímetro.

Al término de los análisis se pudo determinar que el método de extracción que ofrecía mayor contenido de cafeína fue el método de expreso. El método que presentó mayor contenido de ácidos clorogénicos y polifenoles fue el de hervido. El tipo de extracto que presentó mayor capacidad antioxidante fue el método de percolado.

## II. ANTECEDENTES

### A. Consumo de café a Nivel Mundial

En la actualidad el café es la bebida más consumida en los países desarrollados, como lo son los países de Europa y los Estados Unidos. La tendencia del consumo de café ha crecido enormemente y muchas personas poseen la costumbre o el hábito de tomar café durante el día. Dentro de los países donde más café se consume se encuentran: Finlandia, con un consumo de 12kg de café por persona al año; Noruega, con un consumo de café de alrededor de 10kg por persona al año; Suecia, con un consumo de 8.4kg por persona al año y Holanda, con un consumo de 8.2kg por persona al año. En Alemania se consume 6.4kg por persona al año; en Italia se consumen 5.9kg de café por persona al año; en España, la cual ocupa el puesto 19 del ranking mundial, se consumen 4.5kg y en Estados Unidos, que ocupa el puesto 20, se consumen 4.1kg de café por persona al año. (Blanco, 2012)

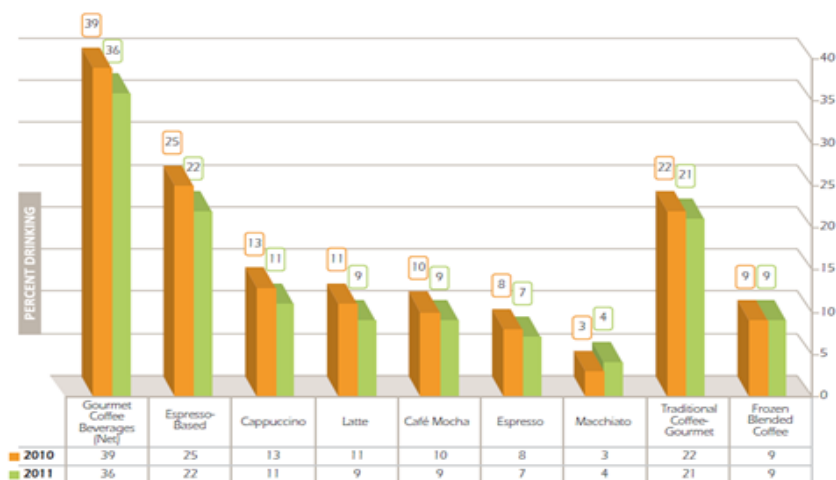
El consumo de café gourmet también presentó crecimiento, ya que en el año 2011 representaba el 37% de todas las tazas consumidas en Estados Unidos, subió a un 54% en el año 2012 de todas las tazas consumidas en ese país. En el ámbito de los tipos de café, el café gourmet presentó el mayor salto, ya que se consume más bebidas de café de este tipo que del tipo tradicional debido a una sofisticación del paladar provocada por los distribuidores de este tipo de bebidas. (Blanco, 2012)

Con el crecimiento y desarrollo que representa la industria del café, no solo en su producción sino que en su venta existen cadenas especializadas en las bebidas de café de nivel internacional. La más representativa de estas cadenas es Starbucks, la cual se ha expandido en mercados de distintos continentes como Norte América, parte de Centro América, Europa y Asia. Pero en este negocio Starbucks no se encuentra solo, y compite con cadenas como McCafé de McDonald's, Burguer King y Dunkin' Donuts. En la actualidad McCafé se encuentra presente en 40 países y ofrece bebidas de café que tienen la aprobación y aceptación de una porción alta de los consumidores. Tanto Starbucks como

McDonald's cuentan con sus mezclas propias de café y están asociados con los mayores especialistas de café del mundo. Según un estudio realizado por la revista Consumer Reports en marzo de 2007, se determinó que el café de McDonald's tenía un mejor sabor y era menos costoso que el de Starbucks, Burguer King y Dunkin' Donuts. (Blanco, 2012)

Debido a este movimiento marcado de consumo de café de alta calidad se ha visto un cambio en la producción, preparación y consumo alrededor del mundo. En el caso de los países productores se observó un crecimiento de 3.9% entre los años 2004 y 2008. En cuanto a los países consumidores se observó un incremento en el consumo de café expreso de 14.48% a 29.39% entre los años 2002 a 2009. Esto ya que se tenía la costumbre de consumir café elaborado en percoladora pero que era de pobre preparación y no tenía características sensoriales adecuadas, por lo que el consumidor estadounidense está cambiando del café percolado a bebidas más elaboradas de tipo gourmet como lo es el café expreso. En el caso de México para el año 1994 se tenía un consumo de café de 0.5kg de café por persona al año, este se incrementó para el año 2009 a 1.2kg de café por persona al año. (Hernández, 2011)

Figura No. 1: Consumo de café en taza en Estados Unidos en los años 2010 y 2011.



(NCA, 2011)

Actualmente, el desarrollo y cambios en las tendencias de consumo de café han conllevado a la implementación de mayores cuidados en la preparación de la bebida de

café, tales como: el mejoramiento de los métodos de preparación, las dosificaciones, el tiempo de extracción, la calidad del agua, las temperaturas de preparación, los tiempos y los equipos. También el desarrollo de mejores manejos en el momento del empaque, el tueste, el cual es importante para el desarrollo de las características sensoriales y químicas, la molienda y el almacenamiento. (Hernández, 2011)

1. Presentaciones de café preferidas en Europa. Dentro de las preferencias en Europa para el consumo de café se tienen las siguientes:

- Café tostado molido: se utiliza para cafeteras y es el principal tipo de café consumido en Europa. (Chavarría, 2010)
- Café tostado en grano: se vende para consumo en casa por el incremento en el uso de máquinas de expreso y cappuccino. Se vende en comerciales y cafeterías. (Chavarría, 2010)
- Café descafeinado: ha perdido popularidad y consumo desde que los europeos ya no se preocupan por el consumo de cafeína. Todavía representa alrededor del 10% de ventas de café. (Chavarría, 2010)
- Café instantáneo: el consumo de este varía dependiendo del país europeo. En los países donde se consume café gourmet o especializado ha disminuido el consumo de este.
- Café listo para beber: ha ganado popularidad debido a que es rápido y está listo, se consume de preferencia frío. (Chavarría, 2010)
- Café saborizado: en un nicho de mercado en crecimiento. Se encuentra en el mercado con más de 150 sabores como vainilla, nuez y frutas. (Chavarría, 2010)

2. Principales tendencias de consumo en el mercado. Dentro de las tendencias de consumo de café se tienen las siguientes:

- El uso de máquinas domésticas para la molienda del café y consumirlo de la manera más fresca es una moda que está ganando popularidad. También el uso de máquinas de expreso y cappuccino para utilizar en el hogar. (Chavarría, 2010)

- La introducción del “Nespresso” de Nestlé, que es una máquina para preparar expreso, representa un aumento en las ventas de café. (Chavarría, 2010)
- El desarrollo de una “Cultura de Café”, la cual inició con la entrada de Starbucks en varios países. (Chavarría, 2010)
- La creación y desarrollo de ambientes de “celebración del café” que permita convivencia y degustar a los consumidores, principalmente jóvenes, que son los mayores compradores. (Chavarría, 2010)
- Una tendencia en el alza por el café en grano orgánico, da origen a un elevado interés por el Café Arábigo para la elaboración de expreso. (Chavarría, 2010)
- La creación de una certificación llamada “Impatto Zero”, que es una certificación en emisiones de CO<sub>2</sub> proveniente de Italia. (Chavarría, 2010)

## B. Consumo de café en Guatemala

De acuerdo con la Asociación Nacional del Café (Anacafé) en Guatemala el consumo de café por persona es de 138 tazas al año, una cantidad muy baja en comparación con el consumo de otros países que no son productores de café. A pesar de esto existe una tendencia o un movimiento hacia el incremento del consumo interno de café, principalmente del sector de los jóvenes. (Luna, 2011)

Este cambio inició en Guatemala hace unos 5 o 10 años, se menciona en el artículo, ya que debido a las tendencias que ocurren alrededor del mundo y la adopción de costumbres de países desarrollados en el ámbito del consumo de café gourmet provocó que las cafeterías y lugares para consumir café evolucionaran y cambiaran su punto de vista en cuanto a la venta regular de café. (Luna, 2011)

A partir de este cambio se dio la introducción de una tostadora importante internacionalmente, como lo es Starbucks. Esta introducción se dio ya que las cafeterías y lugares de venta de café tenían cierto desarrollo y cubrían una necesidad de consumo que no se había explotado y que llama la atención de marcas internacionales. (Luna, 2011)

Actualmente estos lugares son llamados como “La tercera opción”, esto debido a la “cultura de café” desarrollada en el país, porque es un lugar en el que las personas pueden juntarse y socializar con amigos o compañeros de trabajo y no es un ambiente de trabajo o un ambiente como la casa. Por lo que todos estos factores permiten cambiar la forma y costumbres de consumo del café, no solo en el lugar de consumo, sino en el tipo de café como lo son los cafés gourmet. Esto aumenta el consumo interno de café y crea una demanda en la que se exige calidad del café interno y promueve el desarrollo de otra cultura de consumo. (Luna, 2011)

### C. Regiones de café en Guatemala

En Guatemala se producen cafés de alta calidad y cotizados en el mercado internacional. Se ha llegado con esto a realizar una clasificación de origen, la cual indica su calidad. Para esta clasificación por regiones la Asociación Nacional del Café (Anacafé) ha clasificado o determinado 8 regiones de las que puede provenir el café de Guatemala. Estas regiones son: Acatenango, Antigua, Atitlán, Cobán, Fraijanes, Huehuetenango, Nuevo Oriente y San Marcos. (Anacafé, 2013)

El café perteneciente a cada región tiene distintas condiciones climáticas, de suelo, altura, tipo de grano y especie de café; además de esto cada región presenta características en taza diferentes. En el caso de estas características se encuentran las siguientes:

- Acatenango: la taza presenta marcada acidez, aroma agradable y suave, cuerpo balanceado y limpio y reacio persistente. (Anacafé, 2013)
- Antigua: la taza presenta un balance entre aroma y sabor dulce. (Anacafé, 2013)
- Atitlán: la taza es muy aromática, presenta alta acidez cítrica y mucho cuerpo. (Anacafé, 2013)
- Cobán: la taza tienen trazas frutales, cuerpo fino y balanceado, posee aroma suave. (Anacafé, 2013)
- Fraijanes: la taza presenta alta acidez y un reacio, es aromática y posee un cuerpo moderado. (Anacafé, 2013)

- Huehuetenango: la taza presenta una acidez fuerte y tiene trazas avinatas. (Anacafé, 2013)
- Nuevo Oriente: la taza es balanceada, posee mucho cuerpo y sabor achocolatado. (Anacafé, 2013)
- San Marcos: la taza presenta trazas florales en su aroma y sabor, fuerte acidez y cuerpo marcado. (Anacafé, 2013)

#### D. Capacidad antioxidante del café

La actividad antioxidante de los granos de café y bebidas de café ha sido conocida por un largo tiempo y ha sido evaluada usando diferentes métodos. Varios estudios indican que un contenido alto de polifenoles en el café juega un papel importante en una fuerte acción antioxidante. La concentración de polifenoles altamente activos en granos de café verde es influenciada por las especies y por su origen, en el caso de las bebidas de café depende del procedimiento de preparación. (Cämmerer, 2005)

Durante el tostado los compuestos fenólicos son parcialmente degradados y pueden enlazarse a estructuras poliméricas dependiendo de las condiciones del mismo. Una relación positiva pero no lineal fue encontrada entre la cantidad de ácidos clorogénicos que quedaban luego del tostado y la actividad antioxidante del grano. Las melanoidinas formadas durante el tostado por la reacción de Maillard son también conocidas como antioxidantes. Los mecanismos de la acción antioxidante de las melanoidinas son atribuidos principalmente a reacciones que involucran radicales, como, la captura de radicales hidroxilo, la habilidad para romper mecanismos en cadena de radicales o la captura de oxígeno. (Cämmerer, 2005)

Se ha demostrado, a través de evidencia experimental, que las bebidas a base de café o café preparado poseen altas propiedades antioxidantes y aunque durante el tostado de los granos de café se pierden muchos de los compuestos fenólicos propios del mismo, las propiedades antioxidantes del café preparado se mantienen o se mejoran debido al

desarrollo de compuestos con estas características que son productos de la reacción de Maillard. (Anese, 2002)

La dieta puede jugar un papel importante en la prevención de ciertas enfermedades como cáncer, enfermedades vasculares, hipertensión y obesidad. Las enfermedades crónicas como la aterosclerosis y el cáncer, dos causas principales de muerte en países desarrollados, son asociadas al daño oxidativo. (Andueza, 2004)

Estudios epidemiológicos afirman que el consumo de alimentos con alto porcentaje de compuestos antioxidantes puede disminuir el riesgo de enfermedades crónicas. En una gran variedad de alimentos tratados con calor como el café, la capacidad antioxidante se debe a la contribución de los antioxidantes naturales del café y los inducidos por el tratamiento con calor. (Andueza, 2004)

Se le han atribuido propiedades antioxidantes fuertes a las bebidas a base de café debido a la presencia de compuestos fenólicos naturales y propios del café como los ácidos clorogénicos, ácido cafeico, ácido ferúlico y ácido cumárico. También se atribuye esto a las estructuras polifenólicas formadas a través de reacciones de pardeamiento no enzimático durante el proceso de tostado del café. Además de esto, la cafeína parece contribuir en la actividad antioxidante general del café. (Andueza, 2004)

En otros estudios se demostró que el café actúa como pro oxidante in vitro. Estos resultados aparentemente contradictorios pueden explicarse, considerando que dependiendo del grado de pardeamiento no enzimático, los prooxidantes y los antioxidantes pueden formarse. En el caso de la reacción de Maillard, que es la más importante en el pardeamiento no enzimático, las etapas iniciales son las responsables de la formación de compuestos pro oxidantes, mientras que en las etapas avanzadas o finales los compuestos antioxidantes son los que prevalecen. En algunos estudios se atribuyó la actividad pro oxidante a la degradación térmica de los polifenoles, así como también se observó que la capacidad antioxidante y pro oxidante se ve influenciada por la variedad del café. El café verde contiene diferentes contenidos de ácidos clorogénicos y otros compuestos

polifenólicos, los cuales actúan como potentes antioxidantes, dependiendo de la especie del café. Se han hecho estudios de la influencia de la variedad del café en la capacidad antioxidante y se observaron diferencias entre las propiedades antioxidantes del café Arábica y Robusta. (Andueza, 2004)

Algunos estudios han sido llevados a cabo para evaluar la influencia de los procesos de tostado en la capacidad antioxidante. En el proceso de tostado el café se somete a una gran variedad de cambios y reacciones químicas. Los antioxidantes naturales son degradados con la aplicación de altas temperaturas, pero la actividad antioxidante puede ser mantenida debido a la formación de compuestos con propiedades antioxidantes, producto de una reacción de Maillard avanzada. Ya que el desarrollo de la reacción de Maillard parece jugar un papel clave para contrarrestar el efecto de la degradación térmica de los fenoles naturales del café, se espera que la capacidad antioxidante general del café tostado dependa estrictamente en el grado de desarrollo de la reacción de Maillard durante el tostado. (Andueza, 2004)

## E. Ácidos clorogénicos en el café

La reacción de Maillard es una reacción dominante durante el tostado del café ya que es la que se desea para obtener las características sensoriales del mismo. A partir de esta reacción se forman las melanoidinas las cuales son moléculas de alto peso molecular. El contenido de melanoidinas en un café preparado o bebida de café se estimó en un 25% de materia seca. Esta molécula no está completamente estudiada debido a su composición química compleja pero una propiedad importante que sí se ha determinado es que posee actividad antioxidante, esto se cree debido a la incorporación de ácidos clorogénicos en la molécula. (Bekedam, 2008)

Los ácidos clorogénicos están presentes en los granos de café y el más abundante es el ácido 5-cafeoilquínico. Se ha determinado que el café verde Arábica contiene cerca de 7% de ácidos clorogénicos y este valor decrece drásticamente hasta un contenido del 0.2% luego del tostado. Esta disminución tan drástica no se ha determinado el mecanismo

totalmente, pero se sugiere que los ácidos clorogénicos se transforman en compuestos del sabor durante el tostado así como también pueden incorporarse a la molécula de las melanoidinas. (Bekedam, 2008)

Los ácidos clorogénicos, que son compuestos fenólicos solubles en agua y son formados a través de la esterificación de algunos ácidos trans-cinámicos, se encuentran en los granos de café y en el café tostado. Los principales subgrupos de isómeros de ácidos clorogénicos en el café son los ácidos cafeoilquínicos, ácidos feruloilquínicos, ácidos decafeoilquínicos y pequeñas cantidades de ácidos p-cumaroilquínicos. Se conoce que estos componen entre un 4 a 12% de la materia seca del café y son responsables de contribuir en la acidez, astringencia y amargura final de las bebidas de café. Esta amargura incrementa debido a la liberación de ácido cafeico y la formación de lactonas durante el tostado, proceso en el cual se generan componentes del sabor y el aroma. (Farah, 2006)

Los ácidos clorogénicos y sus lactonas no solo contribuyen al sabor del café, sino que son compuestos con un potencial biofarmacológico importante para la salud de los humanos. Algunos estudios relacionan a los ácidos clorogénicos con propiedades antioxidantes debido a que se tiene pensado que poseen efectos positivos en enfermedades crónicas degenerativas, en enfermedades cardiovasculares y cáncer. Los ácidos clorogénicos han recibido especial atención debido a la capacidad de incrementar la utilización de la glucosa hepática. (Farah, 2006)

Las cinamoil-1,5- $\gamma$ -quinolactonas son las lactonas principales de los ácidos clorogénicos en el café con un tueste regular y representan alrededor del 0.5% de la composición de la materia seca. Son generadas a partir de los ácidos clorogénicos por la pérdida de una molécula de agua y la formación de un enlace éster intramolecular durante el proceso de tostado. En un estudio realizado en ratas se observó un efecto hipoglucémico y efectos relacionados con el funcionamiento del cerebro, ya que crea un antagonismo del receptor  $\mu$  opioide y el transportador de la adenosina. (Farah, 2006)

El análisis cuantitativo de los ácidos clorogénicos en poblaciones extensas debe ser preciso, imparcial, rápido y de bajo costo. Un método de este tipo permite la reducción del

tamaño de la muestra sin perder precisión. En el caso que sea imparcial o no presente ningún sesgo, permite realizar estimaciones basándose en un valor promedio verdadero. (Ky, 1997)

El procedimiento experimental para el análisis de ácidos clorogénicos se divide en tres pasos, los cuales son: extracción, purificación y separación, y cuantificación de los isómeros por medio de cromatografía líquida o HPLC. En el caso de la extracción, separación y cuantificación, estas dependen directamente de la capacidad y características químicas óptimas de los reactivos o los solventes. En el caso de la purificación pueden utilizarse varios métodos pero estos deben escogerse de acuerdo o en términos de su precisión y eficiencia. (Ky, 1997)

Dentro de algunos métodos desarrollados a través de estudios para la determinación de ácidos clorogénicos se puede mencionar la cromatografía líquida o HPLC, electroforesis capilar y cromatografía electrocinética de Miceller. Estos métodos son excelentes para la determinación y cuantificación de los ácidos clorogénicos, pero son criticados por ser tediosos, extensos en cuanto al tiempo de la prueba y algunos son limitados para volúmenes grandes de muestra y requieren mucho tiempo para que reaccionen. (Belay, 2011)

Existen otros métodos desarrollados que no solo caracterizan de manera cuantitativa sino cualitativa también, dentro de estos métodos están la espectrofotometría UV/vis y la espectroscopia fluorescente. (Belay, 2011)

## F. Cafeína en el café

La cafeína se encuentra en varios tipos de alimentos y bebidas que se consumen diariamente. Posee propiedades con efectos fisiológicos como la relajación de los músculos de los bronquios, estimulación del sistema nervioso central, como el bloqueo de la adenosina, provee de un estado de alerta, secreción de ácido gástrico y diuresis. La concentración in vivo de cafeína es importante en sus efectos en desordenes como enfermedades cardíacas, carcinogénesis, malfuncionamiento o deficiencia renal y asma. Además de esto, el análisis químico de cafeína en granos de café es una herramienta para

evaluar la calidad del café. Se han reportado altos contenidos de cafeína de muestras de alta calidad con muestras de café Arábica. Debido a esto es de gran interés el establecimiento de un método analítico rápido y barato para la determinación de cafeína para un rango amplio de efectos fisiológicos en el organismo humano y en control de calidad. (Belay, 2007; Nehling, 2003)

Las bebidas con cafeína se consumen mucho por el efecto estimulante de este compuesto. Algunos estudios han relacionado el consumo de cafeína con problemas de la salud, pero la evidencia es escasa y este compuesto se mantiene como un compuesto GRAS (Generally Recognized As Safe) por la FDA. La falta de evidencia en estudios previos se debe principalmente a que los estudios epidemiológicos realizados relacionan o realizan una equivalencia de consumo de cafeína con la cantidad de tazas de café consumidas, ignorando como un factor importante e influyente en el contenido de cafeína de la bebida el método de preparación. Debido a esto hay una falta de estudios en los que se demuestre la influencia de los métodos de preparación de café en el contenido de cafeína de la bebida. (Bell, 1996)

Algunos documentos como la Base de Datos de Nutrientes para Estándares de Referencia de la USDA lista que el café preparado contiene una cantidad promedio de 58mg de cafeína/100g de café que es aproximadamente 103mg de cafeína/177mL de café, estos valores pueden variar dependiendo del método de preparación. (Bell, 1996)

Existen muchas diferencias en los métodos de preparación de café, los cuales pueden influenciar el contenido de cafeína consumida. La molienda del café y la relación de agua-café, así como la cantidad de agua y el volumen de café preparado son factores que varían el contenido de cafeína en la bebida de café. (Bell, 1996)

Existen varios métodos químicos y físicos desarrollados para la determinación de cafeína en el café y para otras bebidas. Dentro de esta variedad de métodos y técnicas analíticas encontramos la espectrofotometría derivativa, la cromatografía líquida o HPLC, la transformada infrarroja de Fourier, espectrofotometría de reflectancia NIR, espectroscopia de Raman y electroforesis capilar. (Belay, 2007)



### III. MARCO TEÓRICO

#### A. Antioxidantes

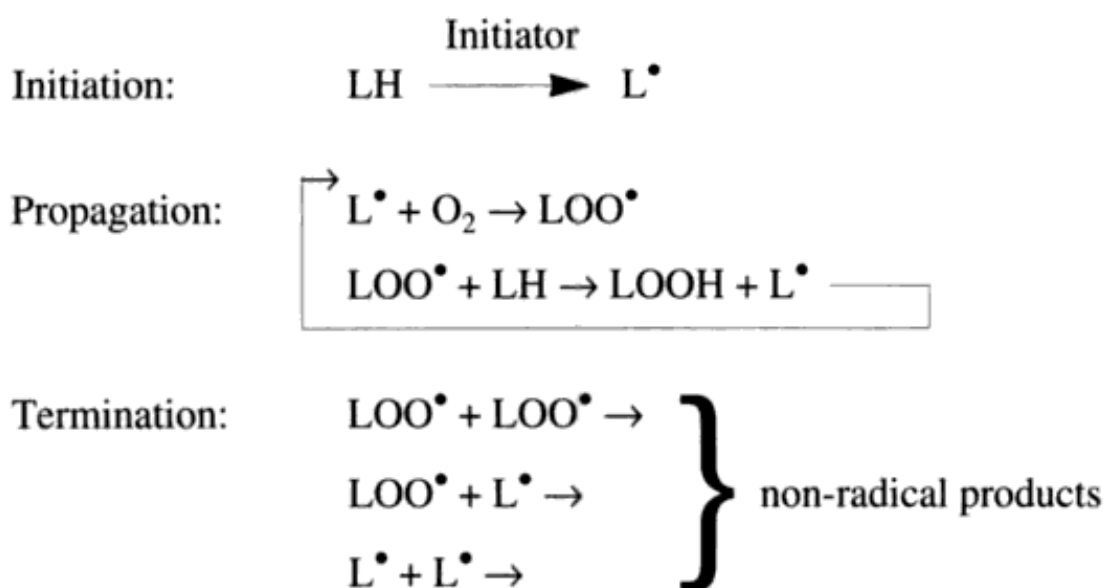
Los antioxidantes son sustancias que cuando están presentes en los alimentos o en el cuerpo humano a bajas concentraciones provocan un retraso marcado en la oxidación de un sustrato oxidable o previenen la oxidación de este sustrato. En la industria de los alimentos se han aplicado antioxidantes de grado alimenticio para prevenir el deterioro de la calidad de los productos y que estos mantengan su valor nutricional. Los antioxidantes también son de interés para los bioquímicos y los profesionales de la salud ya que estos pueden ayudar al organismo a protegerse contra el daño causado por especies de oxígeno reactivas y enfermedades degenerativas. (Shahidi, 1997)

Se conoce que los antioxidantes actúan en diferentes niveles en la secuencia oxidativa involucrando moléculas de lípidos. Los antioxidantes pueden actuar disminuyendo la concentración de oxígeno, interceptando el oxígeno singlete, previniendo el inicio de la primera cadena de reacción por medio de la captura de los radicales iniciales como los radicales hidroxilo, enlazando catalizadores de iones metálicos, descomponiendo productos primarios a compuestos no radicales y provocando un rompimiento de las reacciones en cadena previniendo la abstracción continua de hidrógeno de los sustratos. (Shahidi, 1997)

Los antioxidantes naturales de fuentes dietéticas o parte del consumo regular de una persona incluyen a los fenoles y compuestos fenólicos, quelantes, vitaminas antioxidantes y enzimas, carotenoides y carnosina. La presencia de los antioxidantes en plantas vivas puede ser en aras de proteger tejidos de daños por golpes o lesiones. Los efectos benéficos del consumo alimentos vegetales han sido atribuidos, en parte, a la presencia de antioxidantes en las plantas y que son asociados a efectos benéficos contra muchas enfermedades cardiovasculares, cáncer y cataratas, entre otras enfermedades degenerativas. (Shahidi, 1997)

El proceso de autooxidación y el desarrollo de rancidez in los alimentos involucra una cadena de mecanismos de los radicales libres que se compone de tres pasos, la iniciación, la propagación y la terminación. En el paso de la iniciación se producen los radicales libres; estos radicales producidos reaccionan con los ácidos grasos insaturados por medio de la abstracción de un átomo de hidrógeno de la molécula en el paso de propagación. El paso de propagación crea una reacción en cadena hasta que se da una terminación o termina la reacción. (Shahidi, 1997)

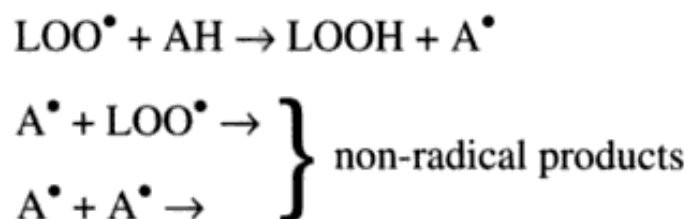
Figura No. 2: Mecanismo de autooxidación y propagación de radicales libres.



(Shahidi, 1997)

Los antioxidantes interfieren con el mecanismo de oxidación debido a una inactivación de los prooxidantes en el medio, como la captura de oxígeno singlete por los carotenoides o la inactivación de catalizadores de metales por la presencia de quelantes. Estas reacciones causan un retraso en el comienzo de la oxidación y la extensión del período de iniciación. Los antioxidantes también pueden donar un átomo de hidrógeno o un electrón a los radicales libres formados a partir de lípidos insaturados para dar estabilidad a los lípidos y prooxidantes. (Shahidi, 1997)

Figura No. 3: Mecanismo de interferencia de antioxidantes en la autooxidación y propagación de radicales libres.



(Shahidi, 1997)

En el cuerpo, los radicales libres pueden ser responsables de enfermedades y lesiones de los tejidos, como, los pulmones, el corazón y el sistema cardiovascular, los riñones, el hígado, el tracto gastrointestinal, la sangre, los ojos, la piel, los músculos, el cerebro y los procesos de envejecimiento pueden verse alterados. Los oxidantes y radicales libres, que son los mediadores de muchos desórdenes, son especies muy reactivas formadas a partir de oxígeno singlete, agua y moléculas lipídicas insaturadas. (Shahidi, 1997)

Por lo tanto, la peroxidación de lípidos no es un problema únicamente para la industria sino para la salud humana también. El exceso de producción de especies de radicales de oxígeno, particularmente los radicales hidroxilo, pueden afectar las membranas lipídicas de la célula para producir peróxidos de lípidos y especies reactivas de oxígeno que están vinculadas con una variedad de enfermedades y la aceleración del proceso de envejecimiento. (Shahidi, 1997)

## B. Polifenoles

Los polifenoles son compuestos que tienen más de un grupo hidroxilo fenólico enlazado a uno o más anillos bencénicos. Los compuestos fenólicos son característicos en plantas y se encuentran generalmente en forma de ésteres o glicósidos que como

compuestos libres. Es importante tomar esto en cuenta si el objetivo es su extracción de los tejidos vegetales. (Vermerris, 2008)

1. Clasificación. El término de fenoles cubre un grupo amplio y diverso de compuestos químicos. Estos compuestos pueden ser clasificados de diferentes maneras. Una forma de clasificación se basa en el número de carbonos en la molécula. (Vermerris, 2008)

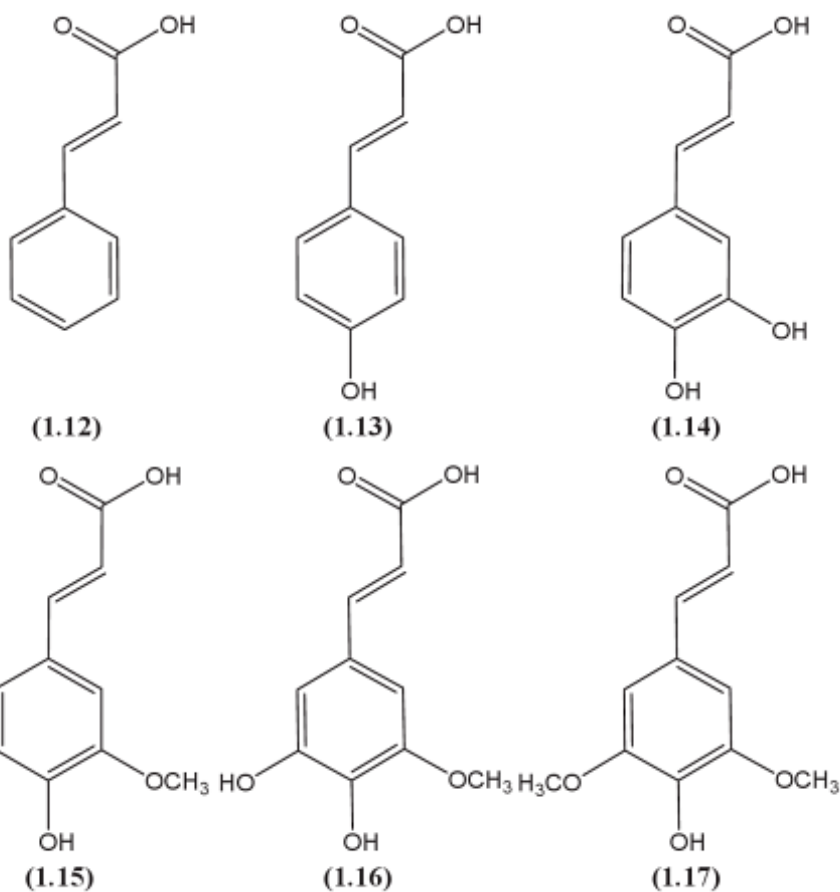
Figura No. 4: Clasificación de compuestos fenólicos.

Structure	Class
C <sub>6</sub>	simple phenolics
C <sub>6</sub> - C <sub>1</sub>	phenolic acids and related compounds
C <sub>6</sub> - C <sub>2</sub>	acetophenones and phenylacetic acids
C <sub>6</sub> - C <sub>3</sub>	cinnamic acids, cinnamyl aldehydes, cinnamyl alcohols
C <sub>6</sub> - C <sub>3</sub>	coumarins, isocoumarins, and chromones
C <sub>15</sub>	chalcones, aurones, dihydrochalcones
C <sub>15</sub>	flavans
C <sub>15</sub>	flavones
C <sub>15</sub>	flavanones
C <sub>15</sub>	flavanonols
C <sub>15</sub>	anthocyanidins
C <sub>15</sub>	anthocyanins
C <sub>30</sub>	biflavonyls
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub> , C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	benzophenones, xanthenes, stilbenes
C <sub>6</sub> , C <sub>10</sub> , C <sub>14</sub>	quinones
C <sub>18</sub>	betacyanins
Lignans, neolignans	dimers or oligomers
Lignin	polymers
Tannins	oligomers or polymers
Phlobaphenes	polymers

(Vermerris, 2008)

2. Ácidos cinámicos. Existen seis ácidos cinámicos comunes que tienen un esqueleto C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>. Todas las plantas probablemente contienen tres de estos. Dentro de estos se muestran los siguientes en la imagen No. 4; el ácido cinámico (1.12), ácido p-cumárico (1.13), ácido cafeico (1.14), ácido ferúlico (1.15), ácido 5-hidroxiferúlico (1.16) y el ácido sinápico (1.17). (Vermerris, 2008)

Figura No. 5: Ácidos cinámicos.



(Vermerris, 2008)

Los ácidos cinámicos se encuentran en las plantas comúnmente como ésteres de ácido quínico, ácido shikímico y ácido tartárico. Un ejemplo de esto son los ácidos clorogénicos, que son un éster de ácido cafeico y ácido quínico. (Vermerris, 2008)

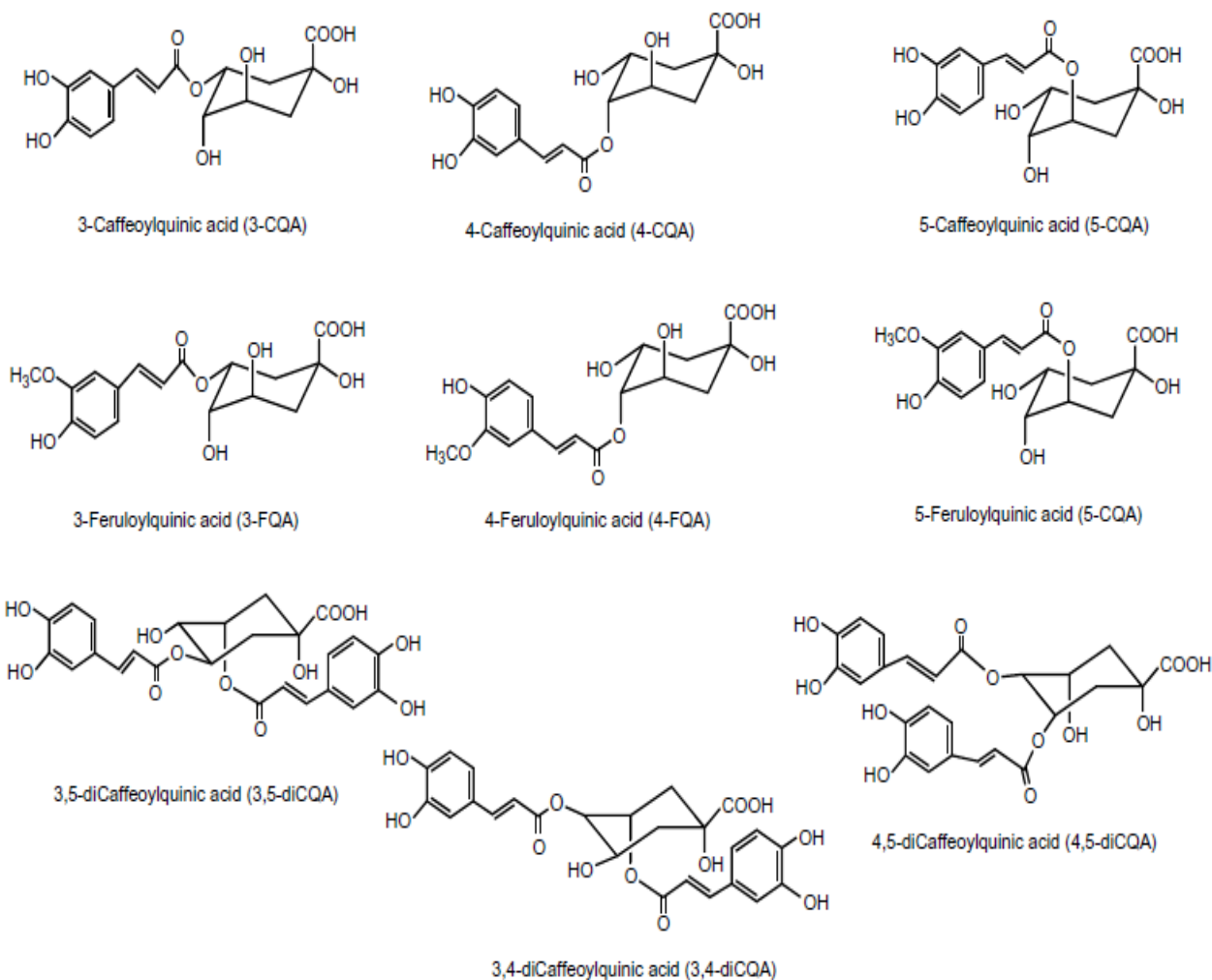
### C. Ácidos clorogénicos

Los ácidos clorogénicos son un grupo importante de los ácidos fenólicos simples, estos comprenden ciertos ésteres de ácido quínico. Estos ácidos representan entre el 7% y 10% de la materia seca del grano verde del café, el cual es una de las principales fuentes de estos compuestos; a pesar de contener tal cantidad de ácidos clorogénicos, al momento de tostar el café se producen reacciones químicas que los degradan o los pierden. (Gil, 2010)

El ácido 5-cafeoilquínico, es un éster del ácido cafeico y del ácido quínico y es el más abundante en el café. El ácido cafeico se absorbe fácil y rápidamente en el estómago y entra al intestino delgado, a excepción de cuando se encuentra en su forma esterificada. En el caso de encontrarse en su forma esterificada se absorbe parcialmente en el intestino delgado y en el grueso. La absorción de los ácidos clorogénicos es de 2 a 4 veces menor que la del ácido cafeico. (Gil, 2010)

Estos ácidos son responsables del sabor y la pigmentación del café tostado; además de esto su solubilidad en agua le permite ser un buen candidato para la evaluación de calidad del café por medios químicos. Estos compuestos también están relacionados y son responsables de los efectos en la reducción de riesgo del padecimiento de enfermedades oxidativas debido al contenido de un anillo fenólico en su estructura. También ofrece protección a los dientes por medio de la formación de una capa protectora contra bacterias. (Solís, 2005)

Figura No. 6: Estructuras de los principales hidroxycinamatos en muestras de café.



(Fujioka, 2007)

#### D. Cafeína

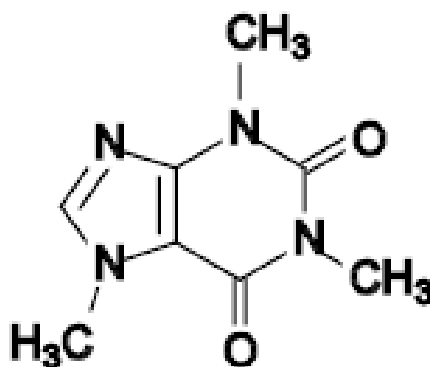
La cafeína o 1, 3, 7-trimetilxantina es el compuesto responsable de las acciones fisiológicas del café y ejerce efectos no solo como estimulante sino sensoriales también, ya que contribuye en el sabor amargo de esta bebida. Cuando se encuentra en los granos verdes, esta forma un complejo poco soluble con los ácidos clorogénicos, lo que evita niveles de toxicidad para los tejidos de la planta. (Gil, 2010)

Al momento del tostado del café se consideraría esperar una disminución de la concentración de cafeína en los granos, esto debido a que su temperatura de sublimación es

de 178°C, pero esto no ocurre, por el contrario se da un incremento en el porcentaje del contenido de cafeína debido a la posible combinación y reacción de varios factores como, el aumento de la temperatura de sublimación, la baja difusión del vapor de cafeína a través del grano y la pérdida de peso que se origina durante el tostado. (Gil, 2010)

Posee propiedades con efectos fisiológicos como la relajación de los músculos de los bronquios, estimulación del sistema nervioso central, como el bloqueo de la adenosina, provee de un estado de alerta, secreción de ácido gástrico y diuresis. (Belay, 2007; Nehling, 2003)

Figura No. 7: Estructura química de la cafeína.



(Belay, 2011)

### E. Cromatografía HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

La cromatografía líquida que utiliza un medio móvil y un medio estacionario y es pasada por una columna determinada para su separación utilizando altas presiones. La rapidez de distribución está controlada por difusión. Para reducir el tiempo y la difusión de los movimientos de los componentes dentro de la columna se deben satisfacer dos criterios. El primero es que el material de empaque esté finamente dividido y tener regularidad esférica para tener una homogeneidad óptima y densidad de empaque. El segundo criterio que se

debe satisfacer es que la fase estacionaria debe ser una capa fina y uniforme para que no haya estancamiento. (Christian, 2009)

1. Fases estacionarias. Las partículas más utilizadas como fase estacionaria son las partículas microporosas o difusivas, son permeables al disolvente. La superficie está dentro de los poros. Con esto la fase móvil se mueve de acuerdo a las partículas y se da la difusión del soluto a la fase móvil estancada en los poros y se da una interacción entre las fases estacionaria y móvil; después de esto se lleva a cabo una difusión de salida del poro hacia la fase móvil. El uso de partículas pequeñas reduce a su expresión más pequeña la longitud de la trayectoria de difusión y esto provoca el ensanchamiento de la banda. Las fases estacionarias no polares enlazadas más utilizadas en cromatografía de fase inversa son las que poseen  $C_{18}$  y  $C_8$ . El  $C_{18}$  (octadecilsilano u ODS) es el más utilizado y este es no polar. (Christian, 2009)

2. Equipo para HPLC. Un equipo para análisis con HPLC requiere cuatro elementos principales, estos son:

a. Sistema de suministro de fase móvil. En este sistema es imperativo el uso de una bomba para alcanzar las altas presiones que se requieren para transportar la fase móvil y que haya movimiento en todo el sistema. Estas bombas generalmente también cuentan con un medio para producir gradientes de elución. Los disolventes que se utilizan para pasar a través del sistema deben ser puros y no contener gases con el fin de evitar la formación de burbujas, es importante que no ingresen burbujas al sistema ya que pueden dañarlo o en el caso de los análisis puede generar picos falsos en el detector. (Christian, 2009)

Los flujos más utilizados son de 1 a 2mL/min en columnas convencionales de 4.6mm de diámetro interior. Los disolventes utilizados deben ser grado "HPLC", esto quiere decir que han sido filtrados en poros de  $0.2\mu\text{m}$ , esto para prolongar la vida útil de la bomba y evitar rayado, contaminación y obstrucción de la columna. (Christian, 2009)

La bomba que más se utiliza en los sistemas de HPLC es la bomba reciprocante. Esta tiene una cámara cilíndrica pequeña en donde se encuentra un pistón que se llena con la fase móvil y se vacía con un movimiento del pistón. Este tipo de bombas presenta algunas ventajas como contar con pequeño volumen dentro de ellas, capacidad de producir presiones altas y son fáciles de utilizar para realizar análisis con gradiente de elución, proporcionan flujos constantes e independientes de la viscosidad del disolvente o de la contrapresión en la columna. (Christian, 2009)

b. Sistema de inyección de muestra. Estos sistemas generalmente se componen de un anillo de acero inoxidable con seis conexiones diferentes, de las cuales una tiene dirección a la columna. Este anillo cuenta con un cono móvil de teflón en su interior con tres segmentos abiertos y cada uno de estos conecta un par de las conexiones externas. De estas conexiones, dos de ellas se conectan a un circuito externo de muestras de volumen conocido o fijo. Dependiendo de la colocación del cono este puede permitir el flujo directo del efluente a la columna y llenar el circuito con la muestra. Este cono luego se gira y se cierra el circuito para que la muestra entre en la corriente de movimiento y sea barrida hacia la columna. (Christian, 2009)

c. Columna. Estas se presentan en diferentes diámetros y longitudes dependiendo de su aplicación. En promedio los diámetros internos son de 3.9 a 4.6mm. En su interior estas columnas contienen las fases estacionarias de partículas con microporos y tienen una cantidad de platos teóricos que dependen de la longitud. (Christian, 2009)

d. Detector. En HPLC se utilizan distintos tipos de detectores debido a que se necesita que tengan una gran sensibilidad. Dentro de los detectores más utilizados se pueden mencionar los refractómetros y detectores ultravioleta. El detector de refractómetro diferencial mide cambios en el índice de refracción del eluyente debido a la presencia de solutos cuando sale de la columna. Este detector es sensible a la temperatura y no puede aplicarse en análisis con gradiente de elución. (Christian, 2009)

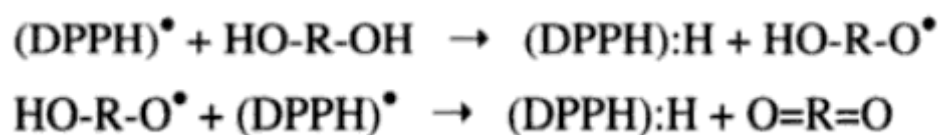
El detector ultravioleta es más selectivo, no es sensible a la temperatura, es más económico y puede utilizarse para mediciones con gradiente de elución, es sensible a la presencia de compuestos orgánicos. Este detector no puede utilizarse con disolventes que tengan absorción en el rango UV o con compuestos que no absorban UV. (Christian, 2009)

Existe también un detector con arreglo de diodos el cual permite elaborar un diagrama tridimensional de la información graficada en tiempo, longitud de onda y absorbancia. Este detector permite la obtención del espectro de absorbancia, el cual es una información cualitativa de mucha importancia. Este detector permite la resolución de espectros solapados y proporciona la capacidad de separación cuando un máximo cromatográfico consiste en dos o más analitos. (Christian, 2009)

#### F. DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil)

El DPPH o 1,1-difenil-2-picrilhidrazil es un radical libre muy estable utilizado para la determinación de la habilidad inhibitoria de varios antioxidantes. La utilización de este método utilizando el compuesto DPPH es para evaluar la capacidad o la actividad antioxidante. El antioxidante debe reaccionar con los radicales libres, tales como, radicales hidroperóxidos generados de la peroxidación de lípidos y finalizar o terminar con la propagación de las reacción de oxidación en cadena. (Shahidi, 1997)

Figura No. 8: Mecanismo de reacción de los antioxidantes con el radical DPPH.



(Shahidi, 1997)

El radical DPPH, que posee un color violeta oscuro, recibe un protón del antioxidante y pierde el color y se convierte en una especie de DPPH protonado. Al utilizar este reactivo es posible analizar la capacidad para capturar radicales libres del antioxidante por medio de métodos de espectrofotometría. (Shahidi, 1997)

La habilidad de los compuestos fenólicos para la captura de radicales DPPH se debe a la habilidad de los mismos para donar hidrógeno. Esto sucede ya que el número de grupos hidroxilo en la estructura de ciertos polifenoles, como las catequinas o teoflavinas, se relaciona con la capacidad de donar hidrógeno y por lo tanto esto incrementa o mejora su capacidad de captura de radicales libres. (Shahidi, 1997)

## G. Pardeamiento No Enzimático

Se entiende por pardeamiento no enzimático a un conjunto de reacciones químicas compleja que afecta componentes de los alimentos como proteínas y azúcares. Estas reacciones producen o provocan la formación de pigmentos poliméricos de colores pardos o negros llamados melanoidinas. Estas reacciones generalmente generan modificaciones en el color, el olor y el sabor de los alimentos. Estas reacciones muchas veces son indeseadas o desfavorables para el alimento, pero en algunos casos estos cambios son deseados y le dan características especiales al producto. (Bello, 2008)

Estas reacciones pueden suceder durante los procesos tecnológicos de concentración de productos como leche o concentrados de frutas, procesos de pasteurización o durante procesos de deshidratación de carnes, huevos, leche, concentrados de frutas, concentrados de pescado, entre otros. Estas reacciones no solo afectan las cualidades organolépticas de los productos, sino que afectan también e incluso pueden perjudicar el valor nutritivo de los productos y representar un factor limitante para la vida útil de los alimentos procesados. (Bello, 2008)

Dentro de la industria, los efectos causados por el pardeamiento no enzimático son deseados en algunos casos como la formación de la corteza del pan, la elaboración de papas fritas, el tostado del café, el sabor de las carnes asadas y fabricación de cereales, entre otros. En muchos de estos casos los resultados son similares y la cadena de reacciones es variada y compleja, pero las modificaciones que se llevan a cabo son sobre los sustratos

correspondientes siempre. Estos componentes o sustratos suelen ser los carbohidratos de bajo peso molecular y aminoácidos, y de manera secundaria los compuestos carbonilos que se forman durante el proceso de oxidación de lípidos insaturados. En la reacción del pardeamiento no enzimático intervienen reacciones diferentes y variadas, además de esto depende de los sustratos disponibles para la reacción y las condiciones en las que se encuentre el alimento. Dentro de los mecanismos de reacción del pardeamiento no enzimático se encuentran: la reacción de Maillard, la caramelización de los azúcares y la oxidación del ácido ascórbico. (Bello, 2008)

1. Reacción de Maillard. Esta reacción consiste de un mecanismo global complicado, por lo que se puede estructurar en cinco etapas. Dentro de estas cinco etapas están la condensación azúcar-aminoácido, la transposición de los productos condensados, la formación de estructuras insaturadas por separación de átomos de hidrógeno, procesos de fisión y degradación y la polimerización para dar lugar a las melanoidinas. (Bello, 2008)

a. Condensación azúcar-aminoácido. Consiste de la condensación de la reacción entre los grupos carbonilos de los azúcares reductores con los grupos aminos de los aminoácidos y proteínas, produciendo así las carbonilaminas o glucosaminas N-sustituidas. Esta condensación puede llevarse a cabo con cualquier azúcar reductor como las aldosas, cetosas, disacáridos, ácidos uránicos, entre otros. De esta condensación resultan productos muy inestables en medios ácidos como lo son las bases de Schiff. (Bello, 2008)

La condensación depende del pH de un modo complicado, ya que afecta la velocidad de reacción; la velocidad se inhibe si el pH de los medios es ácido y se incrementa la catálisis ácida de los protones. La condensación entre los grupos carbonilos y aminos implica una menor disponibilidad de muchos aminoácidos del alimento y pérdida de solubilidad y digestibilidad de las proteínas. Con esto se ve comprometido el valor nutritivo del alimento ya que no cuenta con aminoácidos esenciales disponibles. (Bello, 2008)

b. Transposición de los productos condensados. Los productos de la condensación sufren una transposición y se pueden formar dos estructuras llamadas compuesto de

Amadori y compuesto de Heyns. Esta transposición se cataliza por las funciones carboxílicas de los aminoácidos y resulta en la formación de compuestos con baja estabilidad. Las transposiciones llevadas a cabo en esta etapa son el primer paso irreversible de este tipo de alteración química. (Bello, 2008)

c. Formación de estructuras insaturadas. En esta etapa se observa un alto grado de insaturación en los compuestos, esto proporciona una gran reactividad de los productos secundarios. Esto conlleva a la formación de compuestos dicarbonílicos insaturados que son precursores de los polímeros pardos. (Bello, 2008)

d. Fisión y degradación. Esta etapa consiste de un mecanismo alternativo llamado degradación de Strecker. En este caso el aminoácido sufre una desaminación y una descarboxilación con formación de un aldehído. (Bello, 2008)

e. Formación de melanoidinas. En las etapas anteriores se forman sustancias reactivas como furfural y derivados, osulosas insaturadas, aldehídos de la degradación de aminoácidos, aldehídos y cetonas formadas de la fisión de las moléculas de carbohidratos. De estas sustancias, las más reactivas son los compuestos dicarbonílicos no saturados, luego los compuestos dicarbonílicos tipo reductonas y de último los aldehídos y cetonas alfa y beta insaturados. (Bello, 2008)

Para la formación de los polímeros de melanoidinas se tienen dos posibles mecanismos. El primero se da a través de la formación de un aldehído insaturado estable que se forma de una reacción catalizada por la presencia de un aminoácido. Los compuestos carbonilos forman polímeros con los grupos aminos disponibles y se lleva a cabo un mecanismo a través del cual se vinculan las proteínas del alimento a la estructura química de los pigmentos pardos. De esta reacción se obtienen compuestos complejos de alto peso molecular llamados melanoidinas. (Bello, 2008)

El segundo mecanismo o la otra vía posible del mecanismo se basan en la formación de reductonas por medio de una enolización para dar lugar a una transposición

de Amadori. Esta reacción se favorece en medios básicos o donde la amina enlazada al azúcar es muy básica. Esta reacción se da en alimentos que poseen un pH cercano a 7. (Bello, 2008)

Los compuestos resultantes de estas reacciones pueden reaccionar con aldehídos o aminas y originar compuestos volátiles que aporten olores o aromas deseables como en el caso de la elaboración de chips de papa, en otros casos pueden producir olores desagradables. (Bello, 2008)

2. Factores que condicionan el pardeamiento no enzimático. Dentro de los factores que influyen en el desarrollo y en la cinética de las reacciones del pardeamiento no enzimático se encuentran: sustratos, temperatura, pH, actividad de agua, condiciones aeróbicas y efecto de catalizadores, entre otros. (Bello, 2008)

a. Sustratos. Los sustratos específicos del pardeamiento no enzimático son los compuestos orgánicos con grupos carbonilos disponibles o libres como azúcares reductores y aldehídos o cetonas formadas en el proceso de rancidez de lípidos insaturados. Los compuestos que poseen grupos amino libres como aminoácidos y proteínas son condicionantes de la reacción de pardeamiento no enzimático. La reactividad de los sustratos está regulada por la presencia de algún impedimento estérico. Los compuestos más reactivos suelen ser los compuestos carbonilos de bajo peso molecular y los que responden a estructuras abiertas. (Bello, 2008)

b. Temperatura. La temperatura es un factor importante ya que la mayoría de las reacciones del pardeamiento no enzimático se caracterizan por necesitar una energía de activación alta, esto ya que la velocidad con la que se desarrolle la reacción va a ser en función de la temperatura. La velocidad de reacción del pardeamiento enzimático se duplica por cada diez grados que la temperatura incrementa. (Bello, 2008)

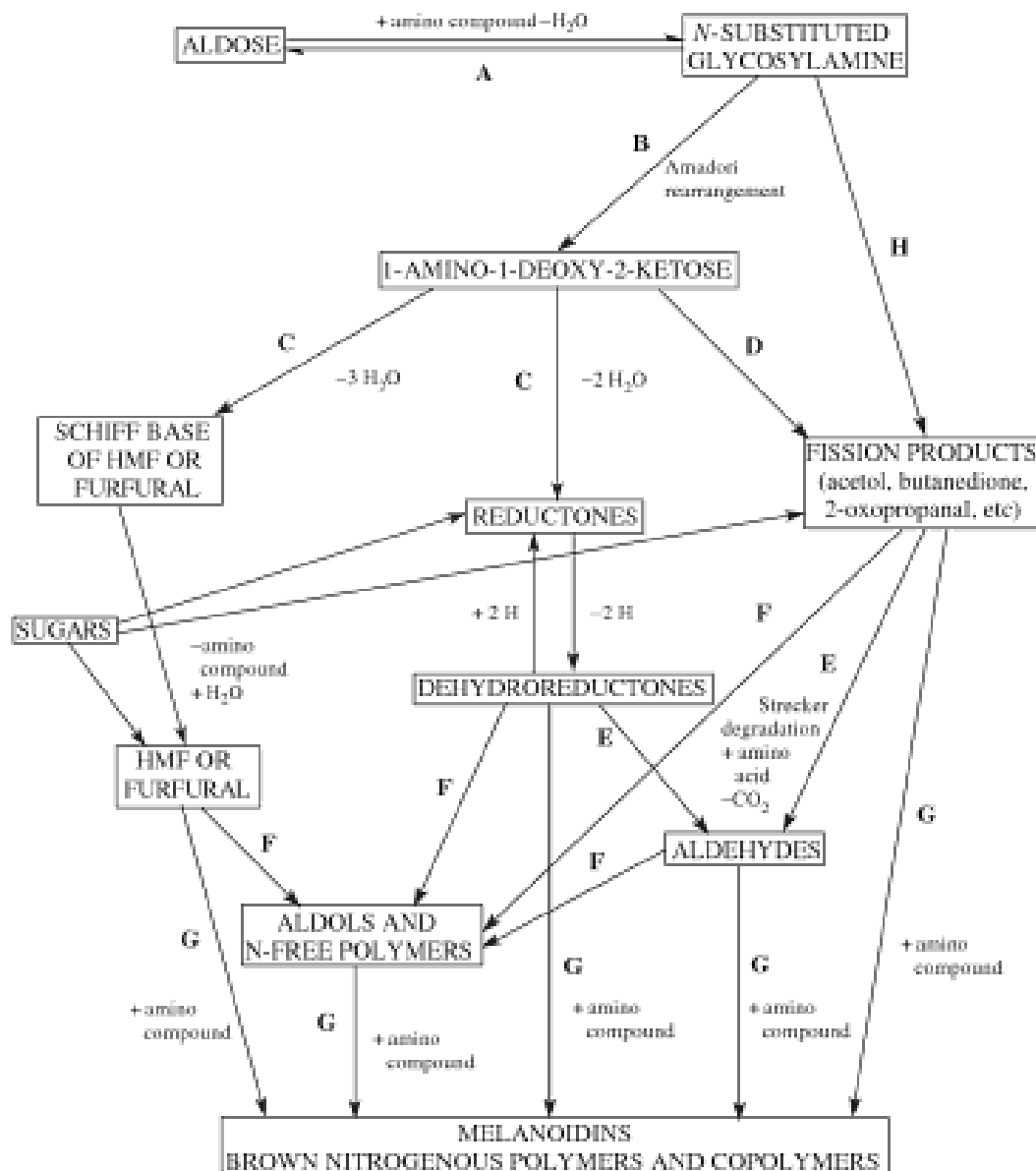
c. pH. La cinética de las reacciones del pardeamiento no enzimático se tornan complejas y su comportamiento es complicado ya que cada etapa de las reacciones del mecanismo presenta valores de pH óptimos para reaccionar. (Bello, 2008)

d. Actividad de agua. La actividad de agua o la cantidad de agua disponible es importante en el desarrollo de la reacción de Maillard, esto ya que la velocidad de reacción aumenta de forma exponencial conforme aumenta la actividad de agua del alimento. En un proceso de deshidratación se tienen el riesgo de pardeamiento no enzimático cuando se alcanzan valores de actividad de agua inferiores al 20%. (Bello, 2008)

e. Condiciones aeróbicas. La presencia de oxígeno no es importante y no es necesaria para llevar a cabo la reacción de Maillard. Este afecta principalmente al pardeamiento no enzimático mediado por la oxidación de ácido ascórbico. (Bello, 2008)

f. Presencia de catalizadores. La presencia o ausencia de cationes metálicos afecta el desarrollo de la reacción de Maillard, esto ya que el efecto de algunos metales como el hierro y el cobre aceleran y promueven los mecanismos de reacción de pardeamiento por medio de dicha reacción; mientras que en presencia de metales como el estaño el pardeamiento se ve inhibido, esto junto con una combinación de condiciones de pH adecuadas para la actividad del metal. Los efectos de los metales se deben a cambios de pH. (Bello, 2008)

Figura No. 9: Mecanismo de reacción de Maillard.



(Nursten, 2005)

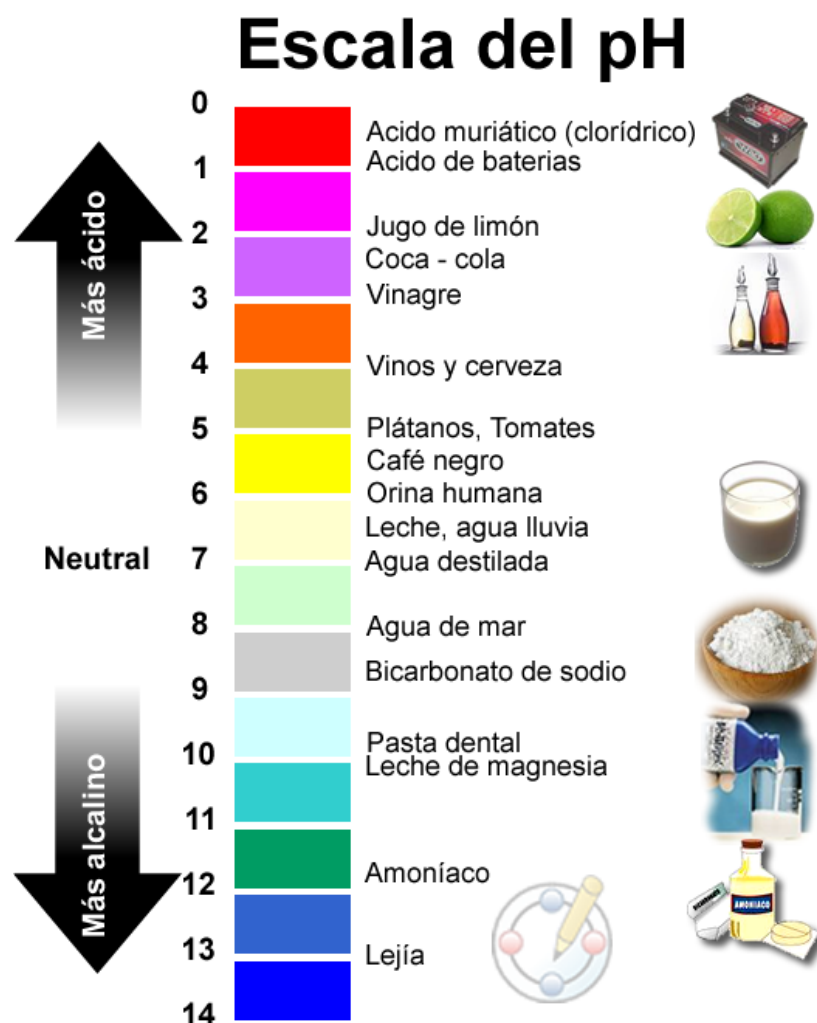
## H. pH

Ácido y Básico son dos extremos que describen una propiedad química. La mezcla de ácidos y bases puede cancelar una a la otra o neutralizar sus efectos. Una sustancia que no es ácida ni básica es neutra. La escala de pH mide qué tan ácidas o básicas son las

sustancias, esta va en un rango de 0 a 14. Un pH de 7 es un pH neutro, cuando es menor a 7 la sustancia es ácida y si es mayor de 7 la sustancia es básica. (Ophardt, 2003)

La escala de pH es logarítmica y como resultado de esto, cada valor por debajo de 7 es diez veces más ácido que el siguiente valor. Sucede lo mismo para los valores por encima de 7, cada valor es 10 veces menos alcalino que el siguiente valor. (Ophardt, 2003)

Figura No. 10: Escala de pH.



(ITE, 2013)

El pH se mide generalmente utilizando un pHmetro o potenciómetro. Este es un aparato electrónico con un electrodo que se inserta en la solución o muestra con pH desconocido. El electrodo contiene una solución acuosa ácida dentro de una membrana de vidrio especial

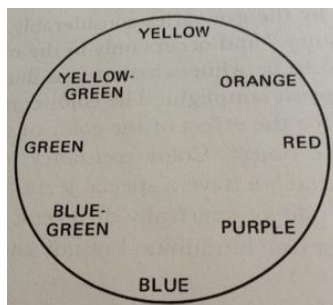
que permite la migración de los iones  $H^+$ . Si la solución o muestra desconocida posee un pH diferente al de la solución dentro del electrodo se produce un cambio en el potencial eléctrico y se registra el valor en el medidor del aparato. (Zumdahl, 2009)

## I. Colorimetría

Se considera al color un compuesto característico de tres dimensiones en las que se encuentra un atributo de luminosidad y dos atributos cromáticos llamados matiz y saturación. Debido a que el color es tridimensional se utiliza un sistema para representar el color gráficamente. El término sólido de color es utilizado ampliamente para identificar arreglos dimensionales que están relacionados con los atributos visuales del color. (Hunter, 1987)

Cuando se analiza el color de una manera más cuidadosa se percibe que un este contiene una sombra de un determinado color más que de otros. A esta característica generalmente se le llama matiz. Una especificación de color consiste en más que solo hacer una designación de matiz, esto ya que los colores de un mismo matiz difieren en la concentración, cuanto color hay. A esta diferencia de concentración se le conoce como saturación y se traduce a palabras como profundidad, vividez y pureza. La saturación es más sutil y menos obvia que el matiz. La saturación puede tomarse como una medida de qué tan diferente es el color del gris. (Hunter, 1987)

Imagen No. 1: Arreglos de los colores en el círculo matiz.



(Hunter, 1987)

Los colores del arco íris ajustados en un círculo harían un círculo matiz. El concepto o dimensión de saturación puede incorporarse a este círculo si el centro del este es considerado un gris neutral y el color más saturado está localizado a una distancia lejos del punto central. Un cambio en el matiz está indicado por un movimiento alrededor del círculo, mientras que un incremento en la saturación se da cuando se acerca el punto a los bordes del círculo. El matiz y la saturación son las dos dimensiones del color llamadas atributos cromáticos. (Hunter, 1987)

Imagen No. 2: Arreglo de la superficie de los colores en matiz y saturación.

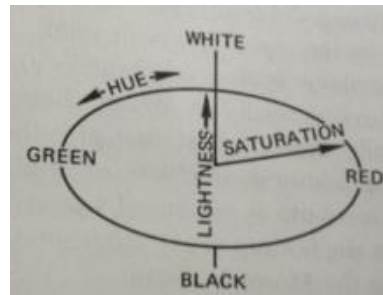


(Hunter, 1987)

Las dimensiones de matiz y saturación indican el color pero no lo diferencian de otros colores debido a que la variación de estos puede ser poco significativa. Es por esto que se necesita la presencia de una tercera dimensión. Esta tercera dimensión es el atributo luminoso, llamada luminosidad. Esta variable se incluye al análisis utilizando un eje perpendicular al matiz y saturación y es una escala acromática ya que está compuesta únicamente por el color blanco, gris y negro. Al realizar esto se obtiene un sólido de color

matiz-saturación-luminosidad utilizado en la identificación y análisis de color. (Hunter, 1987)

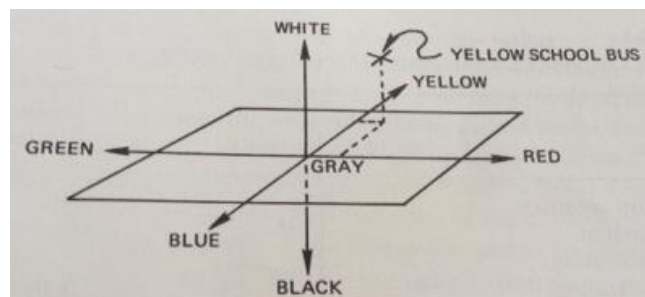
Imagen No. 3: Sólido de color matiz-saturación-luminosidad.



(Hunter, 1987)

Para la medición utilizando el sistema de color de Hunter Lab se utiliza un sólido en el que se envuelve el color rojo contra el verde y el azul contra el amarillo en un plano con un eje transversal de luminosidad. (Hunter, 1987)

Imagen No. 4: Sólido tridimensional de colores contrarios.



(Hunter, 1987)

## J. Bebidas de café

La calidad de las bebidas de café está relacionada directamente con la habilidad para transformar el café molido en una bebida agradable. Existen diferentes métodos para preparar bebidas de café, como: maceración, cocción, por percoladora, filtración por goteo, filtración al vacío e infusión presurizada, el cual es uno de los métodos más importantes y es utilizado para preparar café expreso. Características como el aroma, sabor, color y el cuerpo son atributos de calidad muy valorados en una bebida de café. Las características sensoriales y psicoquímicas del café preparado dependen obviamente de ciertas condiciones técnicas en su preparación. (Andueza, 2002)

1. Café hervido. El café hervido es la forma más antigua para el consumo de café. Este método de preparación no es complicado y no incorpora el uso de aparatos o máquinas que lo provean de presión. Este método de preparación consiste en calentar agua hasta su punto de ebullición y agregar una cucharada de café, aproximadamente entre 1.8 y 1.9g, por cada taza que se desea preparar. El agua en su punto de ebullición extrae los compuestos del café y los solubiliza en el agua, para esto debe aplicarse agitación y por último una filtración.

2. Café percolado. El café percolado se obtiene a través del uso de café tostado y molido al cual se le hace pasar agua caliente ligeramente presurizada a una temperatura de 340°F (171.11°C). El uso de agua presurizada y caliente permite la obtención de la disolución o logra disolver en el agua todos los compuestos extraíbles del café que son solubles en agua. Además de esto produce compuestos solubles de bajo peso molecular y probablemente la solubilización e hidrolización de carbohidratos complejos. El grado de posible hidrólisis se ve acentuado por la acidez inherente del extracto de café que pasa a través de la columna. El pH del café molido utilizado puede ser bajo, aproximadamente 3.4. La presencia de estos carbohidratos hidrolizados da un rendimiento total de 36% o más de extractos solubles en agua utilizando un café tostado y molido, esto en comparación a un 21% de extractos solubles en agua utilizando el mismo café pero aplicando un método de hervido sin utilizar agua presurizada. (Spiller, 1998)

3. Café expreso. El método de expreso es una técnica de preparación basada en una percolación con alta presión de una cantidad limitada de agua caliente a través de café

molido apelmazado, la cual atraviesa el apelmazado y utiliza la energía de la presión de la misma. (Andueza, 2002)

Las sustancias insolubles encontradas en una taza de expreso producen un efecto y una percepción sensorial particular llamada “cuerpo”. Además de esto, la espuma es una característica presente en el café expreso, la cual no se tiene en ninguna otra bebida de café; esta atrapa los aromas volátiles y dosifica su emisión al ambiente. La presencia de una espuma firme es de gran importancia, ya que esta es responsable de la aceptación visual de la bebida. (Andueza, 2002)

Para la elaboración de café expreso existen muchos factores para la obtención de una bebida de calidad, como: el tamaño de las partículas, la relación de café y agua utilizada, la cantidad de café molido utilizado, el volumen de la bebida, la temperatura y la presión del agua, la cual es un factor importante en la preparación de café expreso. (Andueza, 2002)

## IV. JUSTIFICACIÓN

El café es uno de los productos más consumidos alrededor del mundo en países consumidores y se ha observado un incremento en los países productores, lo cual no sucedía unos años atrás. El café se puede adquirir de diferentes formas, puede adquirirse en café verde, café pergamino, café tostado, café tostado y molido, pero la forma en la que todas las personas consumen este producto es en una taza. Como se mostró en la sección de antecedentes, de acuerdo con datos de entidades internacionales y de la Asociación de Café de Guatemala (ANACAFE), el consumo de café es cada vez mayor y mejor. Es mayor en el sentido que su consumo ha incrementado en países regularmente consumidores, pero se ha observado una tendencia de incremento en el consumo de café en los países productores. En el sentido que es mejor su consumo se debe a que el café ya no se elabora en métodos tradicionales, como el café hervido, sino que se han realizado mejoras del café en todo su proceso de elaboración especialmente en el tostado, el molido y por último y más importante, en su forma de preparación.

Actualmente el las bebidas de café presentan gran popularidad en el mercado. El café elaborado por un método de percoladora fue popular, pero en realidad las tendencias al consumo han avanzado más allá de este tipo y el café expreso y las variedades de bebidas de café o bebidas gourmet han revolucionado el consumo y han atraído la atención de una gran cantidad de personas consumidoras de café. El desarrollo y elaboración de estas bebidas no solo han revolucionado en la forma del consumo y en el nivel de consumo, también han representado cambios en la sociedad y la forma en la que se toma el café. Con estos cambios en la sociedad se ha observado la fuerte presencia y la creación de una “Cultura de Café”. Este término desarrollado por las nuevas tendencias de café ha indicado pautas o lineamientos para la forma de consumo de café en lugares sociales, además han demostrado a los productores y comerciantes de café y las bebidas elaboradas a base de este en la importancia de la calidad, el sabor y el contenido de ciertas propiedades de gran valor en esta bebida.

Dentro de estas propiedades del café que deben ser traducidas hacia la bebida se pueden mencionar el contenido de cafeína, ácidos clorogénicos y capacidad antioxidante. Estas propiedades son indicadores de la calidad del café y su bebida, así como son elementos con cierta funcionalidad en el organismo. Estos elementos, además, proveen al café de características sensoriales como lo son el sabor, la acidez, el cuerpo y el aroma, entre otros. Es por esto que su determinación del contenido en la taza es importante, ya que podría diferenciar un café de una buena calidad con beneficios para el consumidor de una taza de café carente de estos. También porque permitiría relacionar las características sensoriales del café en la taza con datos científicos, con valores numéricos y de cierta forma cuantificar estas propiedades.

En Guatemala se tienen diferenciadas 8 regiones cafetaleras, las cuales ofrecen café de buena calidad, pero evaluado sensorialmente nada más. Es por esto que la determinación de estas características es importante ya que permitiría identificar al café de Guatemala cuantitativamente con su perfil o su contenido y respaldar su buena calidad, además de ofrecer un perfil sensorial aceptado por la “Cultura de Café”.

## V. OBJETIVOS

### A. General

Realizar análisis de determinación de características fisicoquímicas y químicas en extractos de café elaboradas por métodos de cocimiento, percoladora y expreso de cafés originarios de las ocho regiones definidas por Anacafé de Guatemala.

### B. Específicos

- Cuantificar el contenido de cafeína y ácidos clorogénicos del café en taza elaborado por cocimiento, percoladora y expreso de las 8 regiones.
- Determinar el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del café en taza elaborado por cocimiento, percoladora y expreso de las 8 regiones.
- Examinar el pH del café de cada región en las tres diferentes preparaciones y observar la variación que pueda existir.
- Analizar y caracterizar el color del café de cada región en las tres diferentes preparaciones.
- Determinar el método de elaboración de café que ofrece mayores contenidos de cafeína, ácidos clorogénicos y mayor capacidad antioxidante.

## VI. MATERIALES Y METODOLOGÍA

### A. Muestras de café

Las muestras de café utilizadas son café molido y empacado al vacío, proveniente de cada una de las ocho regiones cafetaleras de Guatemala (Acatenango, Antigua, Atitlán, Cobán, Fraijanes, Huehuetenango, Nuevo Oriente y San Marcos). Las muestras fueron proporcionadas por la Asociación del Café (Anacafé) de Guatemala.

### B. Preparación de las muestras de café

1. Café hervido. Para la preparación de las muestras de café hervido se utilizó una cucharada de cada muestra de café (aproximadamente de 1.80 a 2.01g) y se utilizaron 160mL de agua medidos con una probeta, equivalente a la cantidad de agua para la elaboración de una taza de café. Se colocó el agua en un beaker de 400mL, se calentó y se midió con un termómetro hasta que se alcanzó la temperatura de ebullición (aproximadamente 95°C). Cuando se alcanzó la temperatura de ebullición se adicionó la muestra de café. La muestra contaba con un agitador magnético para mantener la agitación y esta se hirvió por 5 minutos. Al término de los 5 minutos se quitó de la estufa la muestra y se almacenó en botellas plásticas para su uso posterior.

2. Café percolado. Para la preparación de las muestras de café percolado se utilizó una percoladora marca Coffee Maker con capacidad para la elaboración de 3 tazas. Se utilizó filtros de café comerciales y en ellos se adicionó 3 cucharadas de café por elaboración de cada muestra. Se midieron 470mL con una probeta y se agregaron al depósito de agua de la percoladora. Se activó el funcionamiento de la cafetera y se esperó hasta que el depósito del agua estuviera vacío para apagar el equipo. Cuando terminó la preparación se almacenó la muestra de café en botellas plásticas.

3. Café expreso. Para la preparación de las muestras de café expreso se utilizó una cafetera para expreso con capacidad para elaborar una muestra. Se utilizó 14.00g de café por elaboración de cada muestra. Se midió 250mL de agua con una probeta y se colocaron en el depósito de la cafetera. Se selló la cafetera, se colocó en una estufa y se esperó hasta que el depósito del café se llenara para retirarla de la estufa. Al término de la preparación se almacenó las muestras de café en botellas plásticas.

## C. Determinación de cafeína y ácidos clorogénicos

### 1. Materiales

- a. Cafeína, marca Sigma-Aldrich, pureza 100.7%.
- b. Ácido clorogénico 5-cafeoilquínico, marca Sigma-Aldrich, pureza 95%.
- c. Metanol, marca Merck, pureza 99.9%.
- d. Agua destilada.
- e. Muestras de café de las 8 regiones, preparadas de acuerdo a la sección B “Preparación de las Muestras de Café”.
- f. Balones aforados.
- g. Viales
- h. Jeringas con filtro desechable, marca Millex de 0.22 $\mu$ m.

2. Equipo. Equipo de HPLC marca Agilent, modelo 1100 con una columna C<sub>18</sub> de 4.6x100mm, tamaño de partícula 5 $\mu$ m y detector UV/VIS con arreglo de diodos.

3. Estándares. Para la preparación de la curva estándar se utilizaron estándares de cafeína de 5, 10, 15, 20 y 25 partes por millón y de ácidos clorogénicos de 10, 20, 30, 40 y 50 partes por millón. Se filtraron 2mL de cada muestra a través de un filtro Millex de 0.22 $\mu$ m y se almacenaron en viales para su transporte. Para el análisis se configuró el equipo con un flujo de 1.5mL/min utilizando una fase móvil de metanol-agua 40:60 y se inyectaron 20 $\mu$ L de muestra. El análisis se realizó a una longitud de onda de 274nm y 325nm. El análisis se inició inyectando la solución de cafeína y ácidos clorogénicos de

menor concentración y se procedió con las soluciones consecutivas hasta llegar al estándar más concentrado. El tiempo de cada corrida fue de 3 minutos.

4. Muestras. Para la preparación de las muestras de café para el análisis con HPLC se diluyeron las soluciones madre de acuerdo al Cuadro No. 1.

Cuadro No. 1: Diluciones de muestras de café para la elaboración del análisis con HPLC.

Café Hervido		Café Percolado		Café Expreso	
Volumen de Extracto (mL)	Volumen Aforado (mL)	Volumen de Extracto (mL)	Volumen Aforado (mL)	Volumen de Extracto (mL)	Volumen Aforado (mL)
3	50	5	50	1	50

Estas diluciones se aplicaron en la misma proporción a cada muestra de café hervido, percolado y expreso para el análisis de cafeína y ácidos clorogénicos.

Para la determinación de cafeína y ácidos clorogénicos se utilizó las muestras diluidas de acuerdo al Cuadro No. 1. Se filtraron 2mL de cada muestra a través de una jeringa con filtro y se almacenaron en viales. Se configuró el equipo con las mismas condiciones descritas en la sección 3 “Estándares”. Las concentraciones de la cafeína y ácidos clorogénicos fueron calculadas utilizando la ecuación de regresión de su concentración en el área del pico obtenida por la gráfica.

#### D. Determinación de pH y colorimetría

1. Determinación de pH. Para la determinación del pH de cada muestra se utilizó un potenciómetro portátil marca HANNA modelo HI99161 y se calibró con soluciones buffer de pH 4.01 y 7.00. Se introdujo el electrodo en el extracto de café y se tomó la lectura hasta que el aparato indico que estaba estable.

2. Colorimetría. Para la medición de color se utilizó el método del colorímetro Hunter Lab. Se colocaron 100mL de extracto de café en la cubeta y se realizó la lectura. El equipo utilizado fue un colorímetro HunterLab modelo ColorQUESTII.

## E. Determinación de capacidad antioxidante por Método de DPPH

### 1. Materiales

- a. DPPH marca Sigma-Aldrich.
- b. Metanol, marca Merck, pureza 99.9%.
- c. Muestras de café de las 8 regiones, preparadas de acuerdo a la sección B “Preparación de las Muestras de Café”.
- d. Papel filtro #4, marca Whatman con tamaño de poro de 110mm.
- e. Balones aforados.
- f. Papel aluminio.
- g. Agitador magnético.
- h. Tubos de ensayo.

### 2. Equipo

- a. Espectrofotómetro marca Thermo Electron Corporation modelo Genesys 10UV Scanning.
- b. Vórtex.
- c. Micropipeta con puntas de 1mL.

3. Preparación de muestras. Para la preparación de las muestras de café para el análisis de capacidad antioxidante por DPPH, primero se realizó una extracción metanólica en una solución de metanol-agua con una relación 70:30. Se tomaron 10mL de cada muestra de los extractos de café y se colocaron en un beaker con un agitador magnético, se agregaron 50mL de la solución de metanol-agua al beaker con el extracto de café y se agitó la mezcla por 1 hora a temperatura ambiente. Se filtró la muestra.

Se prepararon las muestras en tubos de ensayo con un volumen total de 4mL. Se utilizaron distintos volúmenes para cada tipo de café (hervido, percolado y expreso). La preparación se realizó de acuerdo al Cuadro No. 2, 3 y 4. Es importante que la solución de DPPH sea fresca y si es necesario realizar varias durante el proceso ya que esta se oxida rápidamente.

Cuadro No. 2: Volumen de muestra de café hervido, metanol y DPPH para análisis.

Número de Tubo	Volumen de Muestra (mL)	Volumen de Metanol (mL)	DPPH (mL)
1	0.02	2.98	1.0
2	0.04	2.96	1.0
3	0.06	2.94	1.0
4	0.08	2.92	1.0
5	0.10	2.90	1.0
6	0.12	2.88	1.0
7	0.14	2.86	1.0
8	0.16	2.84	1.0
9	0.18	2.82	1.0
10	0.20	2.80	1.0

Cuadro No. 3: Volumen de muestra de café percolado, metanol y DPPH para análisis.

Número de Tubo	Volumen de Muestra (mL)	Volumen de Metanol (mL)	DPPH (mL)
1	0.03	2.97	1.0
2	0.06	2.94	1.0
3	0.09	2.91	1.0
4	0.12	2.88	1.0
5	0.15	2.85	1.0
6	0.18	2.82	1.0
7	0.21	2.79	1.0
8	0.24	2.76	1.0
9	0.27	2.73	1.0
10	0.30	2.70	1.0

Para la muestras de café expreso se realizó una dilución de todas las soluciones en las que se tomaron 2.5mL de cada muestra y se aforaron en un balón volumétrico a 25mL con metanol. Posterior a esto se prepararon los tubos de acuerdo al Cuadro No. 4.

Cuadro No. 4: Volumen de muestra de café expreso, metanol y DPPH para análisis.

Número de Tubo	Volumen de Muestra (mL)	Volumen de Metanol (mL)	DPPH (mL)
1	0.05	2.95	1.0
2	0.10	2.90	1.0
3	0.15	2.85	1.0
4	0.20	2.80	1.0
5	0.25	2.75	1.0
6	0.30	2.70	1.0
7	0.35	2.65	1.0
8	0.40	2.60	1.0
9	0.45	2.55	1.0
10	0.50	2.50	1.0

4. Muestras. Para la determinación de la capacidad antioxidante se prepararon los 10 tubos de ensayo con los volúmenes mencionados en el Cuadro No. 2, 3 y 4. Para el análisis se utilizó como blanco el mismo metanol utilizado para la preparación de las muestras. Previo a su lectura en el espectrofotómetro, el equipo se configuró a una longitud de onda de 517nm y se leyó el blanco, luego cada tubo se agitó con un vortex por 15 segundos y se realizó la lectura de cada muestra. Al término de la lectura de los 10 tubos, se colocaron en un lugar oscuro por 30 minutos para dejar que se llevara a cabo la reacción y al término del tiempo mencionado se agitaron los tubos por 10 segundos en un vortex y se realizó la lectura en el equipo.

Con los datos de absorbancia obtenidos al tiempo 0 y al tiempo 30 se utilizó la Ecuación No. 1 para determinar el porcentaje de pérdida de absorbancia y elaborar una gráfica de concentración contra porcentaje de pérdida de absorbancia, obtener la ecuación de la recta y determinar el IC50 por medio de la sustitución del porcentaje de pérdida de absorbancia en la ecuación.

$$\text{Porcentaje de Pérdida de Abs} = \left( \frac{abs_0 - abs_{30}}{abs_0} \right) * 100\%$$

(Ecuación No. 1)

## F. Determinación de polifenoles

### 1. Materiales

- a. Reactivo Folin-Ciocalteu, marca Sigma-Aldrich.
- b. Carbonato de sodio, marca Merck, pureza 99.9%.
- c. Catecol, marca Sigma-Aldrich, pureza 99%.
- d. Metanol, marca Merck, pureza 99.9%.
- e. Agua destilada.
- f. Muestras de café de las 8 regiones, preparadas de acuerdo a la sección B “Preparación de las Muestras de Café”.
- g. Balones aforados.
- h. Papel aluminio.
- i. Tubos de ensayo.
- j. Agitador magnético.

### 2. Equipo

- a. Espectrofotómetro marca Thermo Electron Corporation modelo Genesys 10UV Scanning.
- b. Vórtex.
- c. Micropipeta con puntas de 1mL.
- d. Baño de María.

3. Preparación de estándares y muestras. Para la preparación de la curva estándar se prepararon 5 tubos con un volumen total de 5.5mL con distintos volúmenes de catecol y un tubo como blanco. La preparación de los tubos para la curva estándar se realizó de acuerdo al Cuadro No. 5.

Cuadro No. 5: Volúmenes de soluciones para elaboración de curva estándar.

Número de Tubo	Agua (mL)	Catecol (mL)	Folin (mL)	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (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	0.0	1.0	2.5	2.0
Blanco	1.0	0.0	2.5	2.0

El orden de adición de las soluciones al tubo fue el siguiente: primero, el catecol; segundo, el agua; tercero, el carbonato de sodio; y cuarto, el Folin-Ciocalteu.

Se agitaron en un vortex por 10 segundos y se colocaron en un baño de María por 20min a 45°C. Se configuró el equipo para la elaboración de una curva estándar y se realizaron las lecturas a una longitud de onda de 765nm. Se leyó primero el blanco y luego los 5 tubos con concentraciones de catecol, de la menor concentración a la mayor concentración y se obtuvo la curva.

Para la preparación de las muestras de café se llevó a cabo el mismo proceso descrito en la sección 3 “Preparación de muestras” para la Determinación de capacidad antioxidante por Método de DPPH.

4. Muestras. Para la determinación de polifenoles se preparó un tubo de ensayo de cada muestra de acuerdo a las diluciones definidas para cada tipo de extracto. Los volúmenes utilizados se muestran en el Cuadro No. 6.

Cuadro No. 6: Diluciones utilizadas para la preparación de las muestras de acuerdo al tipo de extracto.

Tipo de Extracto	Agua (mL)	Muestra (mL)	Folin (mL)	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (mL)
Hervido	0.7	0.3	2.5	2.0
Percolado	0.5	0.5	2.5	2.0
Expreso	0.9	0.1	2.5	2.0

El orden de adición de las soluciones al tubo fue el siguiente: primero, la muestra; segundo, el agua; tercero, el carbonato de sodio; y cuarto, el Folin-Ciocalteu. Luego de preparar todos los tubos se agitaron en un vortex por 10 segundos y se colocaron en un baño de María por 20min a 45°C. Se configuró el equipo con las mismas condiciones descritas en la sección 3 “Preparación de estándares y muestras”.

## VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Actualmente el café es la bebida más consumida alrededor del mundo, no solo en países desarrollados sino en los países productores también. Esta creciente tendencia del aumento del consumo de café y de bebidas de café de tipo gourmet es un movimiento mundial que ha revolucionado el consumo de café no solo en la forma de tomarlo, sino en el objetivo de tomarlo, la forma de prepararlo y los momentos de consumirlo, a tal punto que se ha desarrollado una “cultura de café”.

Los países desarrollados ya no son los únicos que cuentan con cadenas de tostaderías o restaurantes que ofrecen variedades de preparaciones de café o bebidas de café gourmet. Actualmente los países productores han incrementado su consumo de café y bebidas de café a partir de la introducción de estas cadenas y de la creación de cadenas internas que ofrecen dicho producto.

Además de la creación y constante incremento del consumo de bebidas de café de tipo gourmet, se puede mencionar que la preocupación de los consumidores por ingerir alimentos de mejor calidad, con características especiales y que sean de provecho para el cuerpo y la salud del mismo, aumenta cada día más. Los consumidores ahora se preocupan por las características nutricionales y funcionales de los alimentos, dentro de las cuales se puede mencionar, el contenido de antioxidantes, del cual los consumidores están conscientes de su existencia y de los beneficios que el consumo de estos representa.

Es por esto que el objetivo principal del estudio fue la determinación del contenido de cafeína, ácidos clorogénicos, polifenoles y capacidad antioxidante en tazas de café elaboradas por distintos métodos comunes de preparación, así como características de pH y color de dichas bebidas de café.

Para la realización de los análisis se utilizaron 8 muestras de café de cada región cafetalera de Guatemala establecida por ANACAFE (Asociación Nacional del Café) y se elaboró cada una por un método de hervido, percolado y expreso para su posterior

determinación de los compuestos mencionados y evaluar los métodos de preparación de acuerdo al contenido de cada uno de estos. Para la obtención de estos datos se utilizaron métodos de cromatografía líquida, utilizando un equipo de HPLC para la determinación de cafeína y ácidos clorogénicos; en el caso de los polifenoles y la capacidad antioxidante se utilizaron los métodos de Folin-Ciocalteu y de DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) respectivamente, y se realizaron las lecturas de ambos utilizando un espectrofotómetro para un análisis de absorbancia. Por último se utilizó un potenciómetro para la obtención del pH de los extractos de café hervido, percolado y expreso; y se aplicó un análisis del color de las bebidas utilizando un colorímetro Hunter Lab.

Se llevaron a cabo primero los análisis de cafeína y ácidos clorogénicos simultáneamente en el cromatógrafo HPLC ya que se utilizó un detector UV/VIS con arreglo de diodos, el cual permitió la lectura de las absorbancias de cada compuesto y redujo el tiempo de análisis de cada muestra. Para la realización del análisis se inyectó cada muestra y se obtuvo la concentración de cafeína y de ácidos clorogénicos en partes por millón (ppm) las cuales por la aplicación de estequiometría se llevaron hasta la determinación de la concentración de cafeína y ácidos clorogénicos en porcentaje de gramos de compuesto por gramos de café (% g/g).

De los resultados de las concentraciones de cafeína y ácidos clorogénicos de cada región en cada método se calculó un valor promedio y su desviación estándar. De acuerdo al Cuadro No. 7 se puede observar que el valor promedio más alto, de  $1.77 \pm 0.12\%$  g/g, lo presentó el café tipo expreso; y que el valor promedio más bajo, de  $1.42 \pm 0.08\%$  g/g, lo presentó el café elaborado por el método de percolado. Sin embargo cabe resaltar que la desviación estándar para el café percolado fue la menor de los tres métodos, de  $\pm 0.08$ . En el caso de la concentración de los ácidos clorogénicos se obtuvieron los valores promedio para cada método y se observó que el método de hervido presentó una concentración de  $4.54 \pm 0.81\%$  g/g, la cual fue la más alta, y de  $3.56 \pm 0.37\%$  g/g para el método de percolado que fue el que presentó menor concentración.

Cuadro No. 7: Concentración de cafeína, ácidos clorogénicos y polifenoles del café de las 8 regiones.

Tipo de Extracción	Concentración de Cafeína (% g/g)	Concentración de Ácidos Clorogénicos (% g/g)	Concentración de Polifenoles (% g/g)
	Promedio ( $\pm$ Desviación Estándar)	Promedio ( $\pm$ Desviación Estándar)	Promedio ( $\pm$ Desviación Estándar)
Hervido	1.64 $\pm$ 0.20	4.54 $\pm$ 0.81	7.11 $\pm$ 1.53
Percolado	1.42 $\pm$ 0.08	3.56 $\pm$ 0.37	1.50 $\pm$ 0.04
Expreso	1.77 $\pm$ 0.12	4.27 $\pm$ 0.60	2.91 $\pm$ 0.34

Los resultados mencionados pueden deberse a que cada método de preparación es diferente al otro en el sentido no solo de la forma de preparación sino en las condiciones en las que se lleva a cabo. Una de las variables muy importantes en la preparación de una bebida de café es la presión, la cual permite el paso del agua a través del grano o de la partícula de café. En el caso del método de percolado, presión a la que opera es baja en comparación a la temperatura que opera. Para el método de hervido la presión también es baja en comparación a la temperatura en que opera, pero en este caso el contacto del agua con la superficie de las partículas es mayor debido a la agitación que requiere. Para el método de expreso la presión representa un valor más alto del que se utiliza en los dos métodos restantes y es un elemento clave en la preparación de una bebida de café de este tipo, ya que con una presión alta y una temperatura alta de operación se permite una extracción mayor a pesar de que el contacto del agua con las partículas de café sea corto.

Además de la presión como una variable importante en la preparación de extractos de café, se puede mencionar: el tipo de máquina que se utiliza, la temperatura, la cantidad de agua, el tiempo de preparación, la agitación, el tipo de café, entre otros. El tipo de tostado del café y el tipo de molienda se estandarizaron al utilizar las muestras de Anacafé.

Las variables que influyen en la preparación de los extractos de café no son las únicas que contribuyen en las características y en las concentraciones de los compuestos, en el caso de la cafeína y de los ácidos clorogénicos. Otra variable importante es el tratamiento previo al tostado que se le dé al grano luego de su cosecha, así como el origen y la especie del café.

De acuerdo a los resultados del Cuadro No. 7 se puede observar que se obtuvo también la concentración en porcentaje de gramo de compuesto por gramo de café (% g/g) de polifenoles de las 8 regiones para cada tipo de preparación. Se puede observar que el valor más alto de concentración de polifenoles fue de  $7.11 \pm 1.53\%$  g/g para el extracto hervido, y de  $1.50 \pm 0.04\%$  g/g para el extracto de café percolado. Se puede notar que la desviación estándar presentada por el extracto percolado es pequeña en relación a la del café hervido y a la del café expreso. Esta variación en la concentración de polifenoles para los distintos tipos de extractos depende directamente de las condiciones de preparación mencionadas anteriormente, pero también depende de otras variables químicas.

Dentro de las variables químicas que se pueden mencionar se encuentran: la solubilidad de los compuestos en el agua, la capacidad de transferencia del grano o partícula al agua, la superficie de contacto de la partícula y muy importante también, el desarrollo de la reacción de Maillard durante el tostado.

Como se mencionó en secciones anteriores de este trabajo, los ácidos clorogénicos son compuestos con una alta solubilidad en el agua cuando están en el grano de café verde y aún en el grano de café tostado. Los ácidos clorogénicos al sufrir un proceso de calor como el tostado, tienden a degradarse, transformarse y combinarse con otros compuestos. Durante la reacción de Maillard los ácidos clorogénicos se combinan con las moléculas de las melanoidinas formadas por dicha reacción, de la misma manera estos se combinan con compuestos del sabor y del olor del café, lo que evita su pérdida y de esta forma representar un contenido de polifenoles en el grano que luego se traduce a la bebida de café. Es por esto que como se puede observar en el Cuadro No. 7, la concentración de polifenoles presenta el mismo orden de concentración que la columna de concentración de ácidos

clorogénicos, ya que los ácidos clorogénicos son los polifenoles del café. De esta forma se puede observar que conforme la concentración de ácidos clorogénicos sea mayor en el extracto de café, mayor será también la concentración de polifenoles.

Los procesos de elaboración de cada extracto son diferentes entre sí, lo que pudo influir en la variación de las concentraciones de ácidos clorogénicos y polifenoles; ya que en el caso del extracto hervido, la agitación proporcionada permitió mayor contacto del agua con las partículas y se pudo llevar a cabo una extracción más eficaz. Por otro lado en el caso del café expreso, que no hay presencia de acción mecánica o agitación, se aplican alta presión y temperatura por un tiempo pequeño de contacto del agua con las partículas de café. Además, para la elaboración de café expreso el café se compactó antes de llevar a cabo el proceso, lo que pudo resultar en una reducción del contacto del agua con el café a pesar de la alta presión que se induce en este método. En el caso del café percolado la concentración obtenida se pudo deber a que el método de preparación consiste en una irrigación de agua caliente a una masa de café y que por gravedad esta pasa a través ella hasta alcanzar el orificio para salir del área de extracción, por lo que mucha de esta es absorbida por las partículas de café y atrapada, lo que provoca una extracción pobre.

La concentración de polifenoles también se pudo ver afectada por la concentración de cafeína, aunque en el Cuadro No. 7 no se observa, se puede mencionar que la cafeína contribuye al contenido de polifenoles en las muestras de los extractos de café. En el caso de la cafeína, la cual es una molécula que no se hace soluble con los ácidos clorogénicos sino hasta después del tostado debido a la degradación de la molécula hacia una forma con más afinidad por el agua luego de la reacción de Maillard, se consideran mecanismos de reacción durante el tostado del café que proponen que la cafeína se concentra durante este proceso y que puede llegar a formar complejos con moléculas de ácidos clorogénicos, lo que podría proveer a la cafeína de una parte fenólica y hacerla parte de los polifenoles del café, atribuyéndole cierta capacidad antioxidante a la molécula y posteriormente a la bebida obtenida a partir de ese café.

La capacidad antioxidante se llevó a cabo en las muestras de café de las 8 regiones de los 3 métodos diferentes de extracción utilizados (hervido, percolado y expreso). La finalidad del análisis de capacidad antioxidante por DPPH era determinar la potencia de cada muestra y obtener un valor general del método de extracción para conocer el que presentara mejor capacidad antioxidante. Se obtuvo el IC50 para cada muestra de cada extracto y se observó que las muestras que presentaron mejor capacidad antioxidante fueron las que poseían un valor de IC50 bajo. Esto ya que se requiere de una menor cantidad o concentración de antioxidantes o polifenoles para reducir en 50% la absorbancia de un oxidante como lo es el compuesto DPPH.

De acuerdo con el Cuadro No. 8 se puede observar que el método de extracción que presentó mayor capacidad antioxidante fue el de percolado con un valor promedio de  $225.67 \pm 61.89 \mu\text{g/mL}$ . Por otro lado el método que presentó menor capacidad antioxidante fue el de expreso con un valor promedio de  $357.98 \pm 111.96 \mu\text{g/mL}$ .

Con respecto a los datos reportados en el Cuadro No. 8 se puede observar que la variación de la capacidad antioxidante entre cada método de extracción es notable. Esto ya que no solo el método de preparación es diferente para cada extracto, sino que al manejar muestras de 8 regiones diferentes las características de origen, especie, cosecha, manejo post cosecha y secado es diferente entre cada café de cada región. Las capacidades antioxidantes de cada muestra de café de las 8 regiones dentro de cada método presentan cierta variación. Por lo que se puede decir que la capacidad antioxidante no solo depende del método de extracción, el origen, especie y proceso sino que también radica en la potencia y la disponibilidad de los polifenoles en las moléculas y compuestos del café. Esto ya que pueden haber moléculas de polifenoles que estén presentes y que en la determinación de la concentración se muestren, pero que su capacidad antioxidante se vea reducida o afectada por el tipo de molécula con la que se combinó o la forma de esta combinación.

Cuadro No. 8: Capacidad antioxidante del café de las 8 regiones extraído por los métodos de hervido, percolado y expreso.

Región	Hervido		Percolado		Expreso	
	IC50 ( $\mu\text{g/mL}$ )	Promedio ( $\mu\text{g/mL}$ )	IC50 ( $\mu\text{g/mL}$ )	Promedio ( $\mu\text{g/mL}$ )	IC50 ( $\mu\text{g/mL}$ )	Promedio ( $\mu\text{g/mL}$ )
Huehuetenango	190.76 $\pm 0.001$	302.15 $\pm 125.85$	224.53 $\pm 0.001$	225.67 $\pm 61.89$	331.37 $\pm 0.001$	357.98 $\pm 111.96$
San Marcos	256.09 $\pm 0.001$		285.00 $\pm 0.001$		536.04 $\pm 0.001$	
Fraijanes	133.61 $\pm 0.001$		281.10 $\pm 0.001$		500.96 $\pm 0.001$	
Nuevo Oriente	545.65 $\pm 0.001$		263.76 $\pm 0.001$		242.48 $\pm 0.001$	
Atitlán	421.27 $\pm 0.001$		107.19 $\pm 0.001$		353.06 $\pm 0.001$	
Acatenango	329.55 $\pm 0.001$		266.19 $\pm 0.001$		179.95 $\pm 0.001$	
Cobán	331.34 $\pm 0.001$		233.83 $\pm 0.001$		325.62 $\pm 0.001$	
Antigua	208.95 $\pm 0.001$		143.19 $\pm 0.001$		394.40 $\pm 0.001$	

Para el análisis de pH llevado a cabo se pudo observar que entre los extractos de café hervido, percolado y expreso no hay una diferencia pronunciada entre los valores de esta propiedad ya que todos mostraron tener un pH ácido, siendo el valor promedio menos ácido el de  $5.71 \pm 0.17$  para el café percolado; y el más ácido de  $5.11 \pm 0.09$  para los extractos de café expreso como se muestra en el Cuadro No. 9.

Cuadro No. 9: Valores promedio de pH para el café de las 8 regiones de acuerdo al método de extracción.

Tipo de Extracción	Promedio de pH
Hervido	$5.61 \pm 0.09$
Percolado	$5.71 \pm 0.17$
Expreso	$5.11 \pm 0.09$

Para el análisis de color por colorimetría con un equipo Hunter Lab, se realizó una medida de las variables  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  para cada muestra de cada extracto diferente. En el Cuadro No. 10 se puede observar el análisis aplicado a las muestras de extracto hervido. Se puede notar que el valor promedio de  $L^*$  (luminiscencia) fue de  $25.57 \pm 0.46$ , lo que indica que las muestras poseen una tonalidad clara y translúcida. En el caso de la letra  $a^*$  se obtuvo

un valor promedio de  $1.66 \pm 0.30$  y para  $b^*$  de  $2.31 \pm 0.55$ . Esto indica que las muestras de café hervido poseen relativamente una luminiscencia alta y poseen tonalidades más amarillas que rojas ya que el valor promedio de  $b^*$  es mayor al de  $a^*$ .

Cuadro No. 10: Valores de colorimetría obtenidos para las muestras de café de las 8 regiones obtenidas por el método de hervido.

Región	Color					
	L*	Promedio	a*	Promedio	b*	Promedio
Huehuetenango	25.43	25.57±0.46	1.66	1.66±0.30	2.29	2.31±0.55
San Marcos	25.12		1.42		1.90	
Fraijanes	25.60		1.52		2.29	
Nuevo Oriente	25.52		1.61		2.19	
Atitlán	25.16		1.34		1.67	
Acatenango	26.71		2.39		3.66	
Cobán	25.37		1.58		2.08	
Antigua	25.61		1.74		2.41	

En el Cuadro No. 11 se puede observar en los resultados mencionados que el valor promedio de la luminiscencia, que es de  $21.58 \pm 0.82$ , muestra que los extractos de café poseen una menor luminiscencia y por lo tanto son más oscuros que los extractos de café hervidos y expreso. En el caso del valor promedio de los rojos-verdes ( $a^*$ ), de  $1.22 \pm 0.22$ , y amarillos-azules ( $b^*$ ), de  $0.32 \pm 0.13$ , se puede observar que los cafés obtenidos por este método presentan una variabilidad en los tonos rojizos y son más predominantes que las tonalidades y el color amarillo en todas las muestras.

Cuadro No. 11: Valores de colorimetría obtenidos para las muestras de café de las 8 regiones obtenidas por el método de percolado.

Región	Color					
	L*	Promedio	a*	Promedio	b*	Promedio
Huehuetenango	22.07	21.58±0.82	1.24	1.22±0.22	0.16	0.32±0.13
San Marcos	22.61		1.26		0.23	
Fraijanes	22.19		0.97		0.25	
Nuevo Oriente	21.39		0.91		0.24	
Atitlán	20.53		1.41		0.36	
Acatenango	20.55		1.60		0.60	
Cobán	20.80		1.01		0.27	
Antigua	22.53		1.32		0.41	

Cuadro No. 12: Valores de colorimetría obtenidos para las muestras de café de las 8 regiones obtenidas por el método de expreso.

Región	Color					
	L*	Promedio	a*	Promedio	b*	Promedio
Huehuetenango	26.24	24.89±0.80	2.43	1.31±0.60	3.25	1.61±0.96
San Marcos	24.59		1.18		1.28	
Fraijanes	24.18		0.68		0.67	
Nuevo Oriente	24.68		1.22		1.55	
Atitlán	24.57		1.11		1.23	
Acatenango	26.27		2.19		3.17	
Cobán	24.36		0.89		0.96	
Antigua	24.24		0.78		0.75	

De acuerdo con los resultados del Cuadro No. 12 del análisis de colorimetría para las muestras de café expreso se puede observar que el valor promedio de luminiscencia (L\*) fue de 24.89±0.80, lo que indica que las muestras poseen un matiz claro y traslucido ya que permite el paso de la luz. Entre las muestras de cada región se puede observar que Huehuetenango y Acatenango presentaron mayores valores de luminiscencia, de 26.24 y 26.27 respectivamente. En el caso del valor promedio de los rojo-verde (a\*) se obtuvo un valor de 1.31±0.60, lo que indica que posee una tonalidad rojiza pero no tan predominante como el caso de las muestras de café hervido. Además se puede notar que hay cierta variación en los valores de cada muestra ya que unos presentan valores más altos como Huehuetenango con 2.43 y Acatenango con 2.19. En el caso del valor promedio para los amarillo-azul (b\*) se obtuvo un valor de 1.61±0.96, lo que indica que predominan los colores amarillos, sin embargo dentro de las muestras se observó que las muestras de

Huehuetenango y Acatenango presentaron valores altos, de 3.25 y 3.17 respectivamente, así como lo hicieron para los tonos rojos y la luminiscencia.

## VIII. CONCLUSIONES

1. No existe un método de preparación que extraiga todos los compuestos de igual manera.
2. El método de preparación que presentó mayor contenido de cafeína fue el método expreso con un valor promedio de  $1.77 \pm 0.12\%$  g/g.
3. El método de preparación que presentó mayor contenido de ácidos clorogénicos y polifenoles fue el método de hervido con  $4.54 \pm 0.81\%$  g/g de ácidos clorogénicos y de  $7.11 \pm 1.53\%$  g/g de polifenoles.
4. El método de preparación que presentó mayor capacidad antioxidante fue el método de percolado con un valor de  $225.67 \pm 61.89$  μg/mL.

## IX. RECOMENDACIONES

1. Realizar un estudio en el que los procesos de preparación del café desde su cosecha hasta la elaboración de la bebida sean estandarizados para reducir las fuentes de error y las variables que afectan a los resultados como lo son el tipo de secado, el tipo de tostado, entre otras.
2. Analizar la relación entre la concentración de ácidos clorogénicos y contenido de polifenoles de cada muestra de cada región para utilizarlo como estándar de calidad del café.
3. Realizar el mismo análisis utilizando muestras comerciales de café local y compararlas con la región correspondiente de las 8 regiones establecidas en Guatemala.

## X. BIBLIOGRAFÍA

1. 2013. *Escala de pH*. Instituto de Tecnologías Educativas. Ministerio de Educación. Gobierno de España. España. [En línea]  
[http://www.educa2.madrid.org/web/educamadrid/principal/files/f439e47f-b043-4ed4-8cfe-19189124b9e5/escala\\_de\\_ph.html](http://www.educa2.madrid.org/web/educamadrid/principal/files/f439e47f-b043-4ed4-8cfe-19189124b9e5/escala_de_ph.html)
2. Anacafé. 2013. *Los Cafés de Guatemala*. Asociación Nacional del Café. Guatemala, Guatemala. [En línea]  
[http://www.anacafe.org/glifos/index.php?title=BuenCafe\\_CafesdeGuatemala#Acatenango](http://www.anacafe.org/glifos/index.php?title=BuenCafe_CafesdeGuatemala#Acatenango)
3. Andueza, Susana; et. Al. 2002. *Influence of Water Pressure on the Final Quality of Arabica Espresso Coffee. Application of Multivariate Analysis*. Departamento de Bromatología, Tecnología de Alimentos y Toxicología. Facultad de Farmacia. Universidad de Navarra. Pamplona, España. Páginas 6.
4. Andueza, Susana; et. Al. 2004. *Comparison of Antioxidant and Pro-oxidant Activity in Coffee Beverages Prepared With Conventional and “Torrefacto” Coffee*. Departamento de Bromatología de Alimentos y Toxicología. Facultad de Farmacia. Universidad de Navarra. Pamplona, España. Páginas 5.
5. Anese, Mónica; Nicoli, Cristina. 2002. *Antioxidant Properties of Ready-to-Drink Coffee Brews*. Departamento de Ciencia de Alimentos. Universidad de Udine. Udine, Italia. Páginas 5.
6. Bekedam, Koen; Schols, Henk A.; et. Al. 2008. *Incorporation of Cholorgenic Acids in Coffee Brew Melanoidins*. Laboratorio de Química de Alimentos y Diseño de Productos y Grupo de Administración de Calidad. Departamento de Agrotecnología y Ciencia de Alimentos. Universidad de Wageningen. Holanda. Páginas 9.
7. Belay, Abebe. 2011. *Some Biochemical Compounds in Coffee Beans and Methods Developed for their Analysis*. Departamento de Física, Universidad de Addis Ababa. Addis Ababa, Etiopía. Páginas 6.
8. Belay, Abebe; Ture, Kassahun; et. Al. 2007. *Measurement of Caffeine in Coffee Beans with UV/vis Spectrometer*. Departamento de Física. Universidad de Addis Ababa. Addis Ababa, Etiopía. Páginas 6.
9. Bell, Leonard; Wetzel, Clinton; Grand, Alexandra. 1996. *Caffeine Content in Coffee as Influenced by Grinding and Brewing Techniques*. Departamento de Nutrición y Ciencia de los Alimentos. Universidad de Auburn. Estados Unidos. Páginas 5.
10. Bello Gutiérrez, José. 2008. *Ciencia Bromatológica: Principios Generales de los Alimentos*. Ediciones Díaz de Santos. España. Páginas 335-343, 347-350.
11. Blanco, Karen. 8 de junio de 2012. *Crece el Consumo Mundial del Café*. Mercado de Dinero USA. Miami, Estados Unidos. [En línea]  
<http://www.mercadodedinerousa.com/tabla-comparativa/7174crece-el-consumo-mundial-del-cafe/>

12. Cämmerer, Bettina; Kroh, Lothar W. *Antioxidant Activity of Coffee Brews*. 2005. Eur Food. Tecnología de Alimentos. Suiza. Páginas 6.
13. Chavarría, Lourdes Ma. 2010. *Café*. Ficha N°7/UE. Programa Desarrollo Económico Sostenible en Centroamérica. Unión Europea. Europa.
14. Christian, Gary D. 2009. Cromatografía de Líquidos. *Química Analítica*. Sexta Edición. McGraw Hill. Interamericana Editores. México D. F., México. Páginas 604-613.
15. Farah, Adriana; De Paulis, Tomás; *et. Al.* 2006. *Chlorogenic Acids and Lactones in Regular and Water-Decaffeinated Arabica Coffees*. Instituto Vanderbilt para Estudios de Café. División de Adicción a la Medicina. Departamento de Psiquiatría. Escuela de Medicina de la Universidad de Vanderbilt. Nashville, Tennessee. Estados Unidos. Páginas 8.
16. Fujioka, K; Shibamoto, T. 2007. *Chlorogenic Acid and Caffeine Contents in Various Commercial Brewed Coffees*. Departamento de Toxicología Ambiental. Universidad de California. California, Estados Unidos. Páginas 5.
17. Gil, Ángel. 2010. *Tratado de Nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos*. 2da. Edición. Tomo 1. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España. Páginas 758.
18. Hernández, Arturo. 2011. *Consumo de Café en México y el Papel de las Cafeterías*. Seminario “El Café, del Campo a la Taza: Situación y Perspectivas en México”. UNAM. Acatlán, México. [En línea] <http://www.cafetrusca.com.mx/articulos2.html>
19. Hunter, Richard; Harold, Richard. 1987. Evaluating the Appearance of Objects. *The Measurement of Appearance*. Segunda Edición. John Wiley & Sons, Inc. Hunter Associates Laboratory, Inc. Reston, Virginia. Estados Unidos. Páginas 7-13.
20. Ky, Chin-Long; Noirot, Michel; Hamon, Serge. 1997. *Comparison of Five Purification Methods for Chlorogenic Acids in Green Coffee Beans (Coffea sp.)*. Laboratorio de Recursos Genéticos e Investigación de Plantas Tropicales. Orstom, Montpellier. Francia. Páginas 5.
21. Luna, Alberto; Dardón, Byron. 16 de enero de 2011. *Mercado Interno de Café se Amplía en Guatemala*. Prensa Libre. Guatemala, Guatemala. [En línea] [http://www.prensalibre.com/noticias/Sube-aroma-cafe\\_0\\_409759023.html](http://www.prensalibre.com/noticias/Sube-aroma-cafe_0_409759023.html)
22. Mullen, W; *et. Al.* 2011. *The Antioxidant and Chlorogenic Acid Profiles of Whole Coffee Fruits are influenced by the Extraction Procedures*. Colegio de Ciencias Médicas, Veterinarias y de la Vida. Universidad de Glasglow. Glasgow, Reino Unido. Páginas 9.
23. Nehlig, Astrid. 2003. *Effects of Coffee on the Central Nervous System. Coffee and Health. New Research Findings*. Seminario Internacional de Café y Salud. Cartagena, Colombia. Página 20-30.
24. Nursten, Harry E. 2005. *The Maillard Reaction: Chemistry, Biochemistry, and Implications*. The Royal Society of Chemistry. Cambridge, Inglaterra. Páginas 1-24.

25. Ophardt, Charles. 2003. pH Scale. *Acids and Bases*. Virtual Chembook. Elmhurst College. Elmhurst, Illinois. Estados Unidos. [En línea] <http://www.elmhurst.edu/~chm/vchembook/184ph.html>
26. Rivero Rosales, Argimiro. 2006. *Evaluación de la Actividad Antioxidante de Polifenoles de Algas Marinas*. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Las Palmas de Gran Canaria, España. Páginas 10.
27. Sato, Yuki; Itagaki, Shirou; *et. Al.* 2010. *In vitro an In Vivo Antioxidant Properties of Chlorogenic Acid and Caffeic Acid*. División de Farmaciencias. Facultad de Ciencias Farmacéuticas. Universidad de Hokkaido. Japón. Páginas 3.
28. Shahidi, Fereidoon. 1997. Natural Antioxidants. *Chemistry, Health Effects, and Applications*. AOCS Press. Champaign, IL. Estados Unidos. Páginas 405.
29. Skoog, Douglas; West, Donald; *et. Al.* 2005. *Cromatografía Líquida de Alta Resolución. Fundamentos de Química Analítica*. Octava Edición. International Thomson Editores. Thomson Learning. Polanco, México D. F. México. Páginas 985-994.
30. Spiller, Gene A. 1998. Caffeine. *CRC Press*. Centro de Estudios e Investigación de la Salud. Fundación Sphera. Los Altos, California. Estados Unidos. Páginas 365.
31. The National Caffee Association of USA. 2011. *Aumento del Consumo de Café Gourmet, una Tendencia a Pesar de la Incertidumbre Económica*. Edición Número 7. Colombia. [En línea] [http://www.cafedecolombia.com/bb-fnc-es/index.php/comments/aumento\\_del\\_consumo\\_de\\_cafe\\_gourmet\\_una\\_tendencia\\_a\\_pesar\\_de\\_la\\_incertidumb/](http://www.cafedecolombia.com/bb-fnc-es/index.php/comments/aumento_del_consumo_de_cafe_gourmet_una_tendencia_a_pesar_de_la_incertidumb/)
32. Vermerris, Wilfred; Nicholson, Ralph. 2008. *Families of Phenolic Compounds and Means of Classification. Phenolic Compound Biochemistry*. Springer Science. Estados Unidos. Páginas 2-6.
33. Zumdahl, Steven. 2009. The pH Scale. *Chemical Principles*. Sexta Edición. Cengage Learning. Estados Unidos. Página 240.

## XI. ANEXOS

Imagen No. 5: Curva de calibración obtenida por cromatografía HPLC para cafeína.

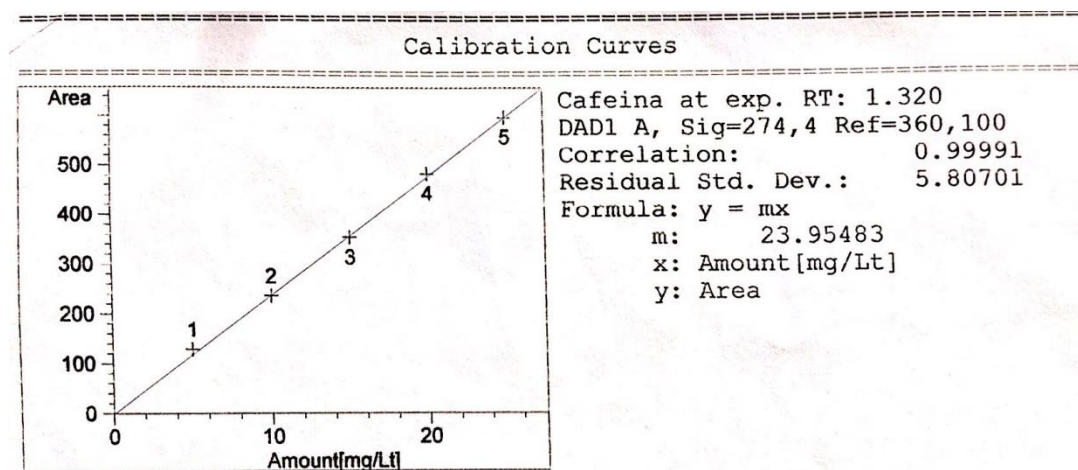


Imagen No. 6: Curva de calibración obtenida por cromatografía HPLC para ácidos clorogénicos.

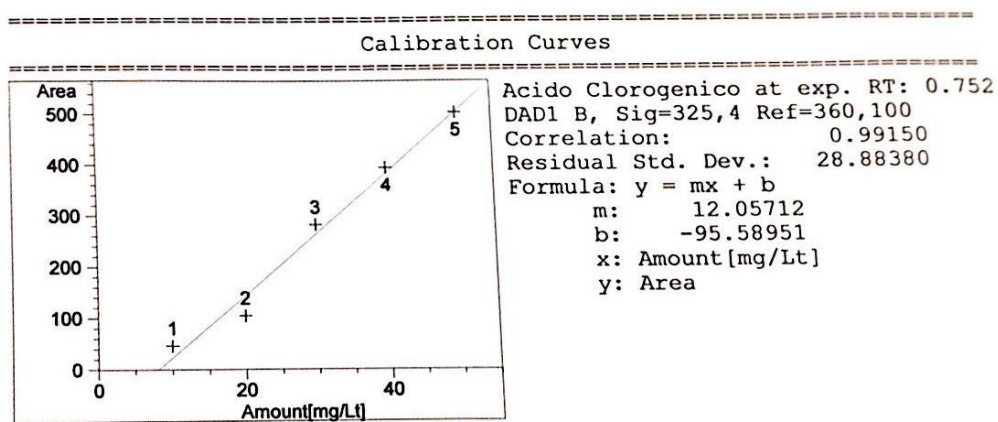


Imagen No. 7: Curva de calibración obtenida para la determinación de concentración de polifenoles.

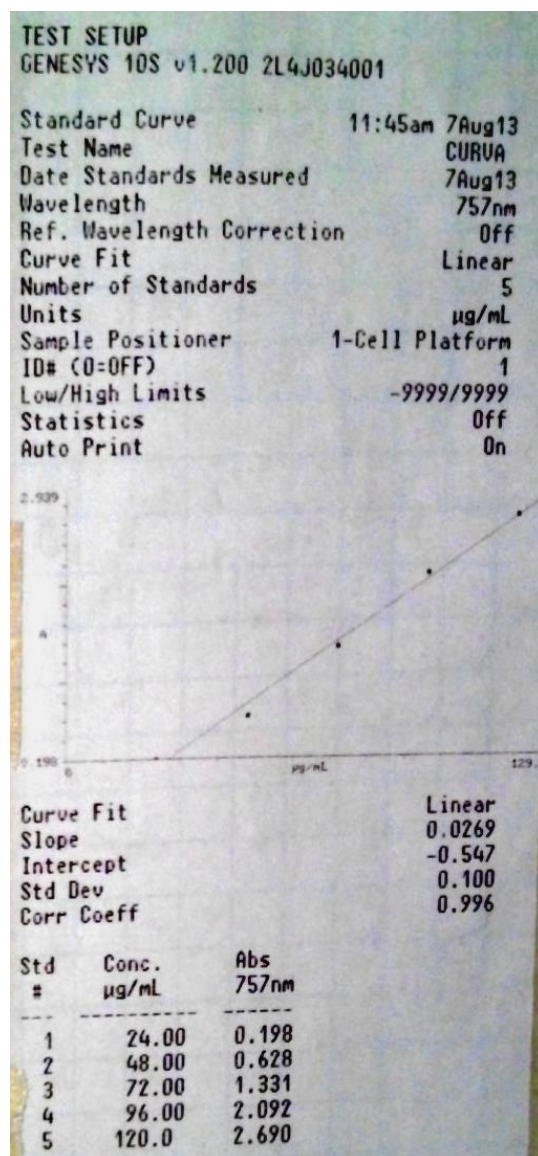


Imagen No. 8: Distribución de muestras de café hervido en el análisis de colorimetría.

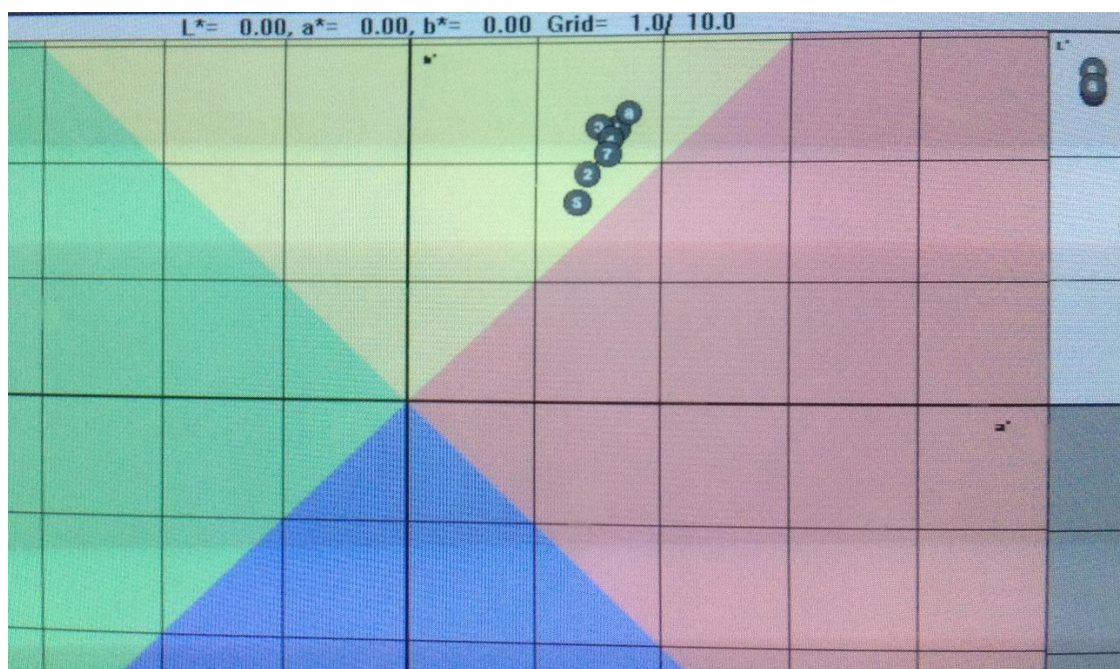


Imagen No. 9: Distribución de muestras de café percolado en el análisis de colorimetría.

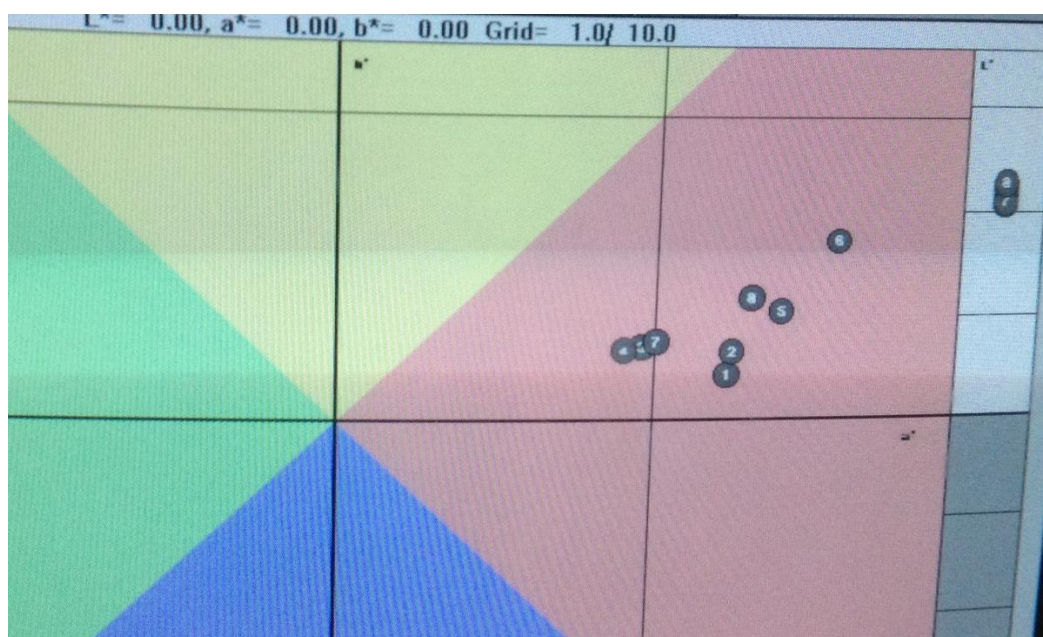
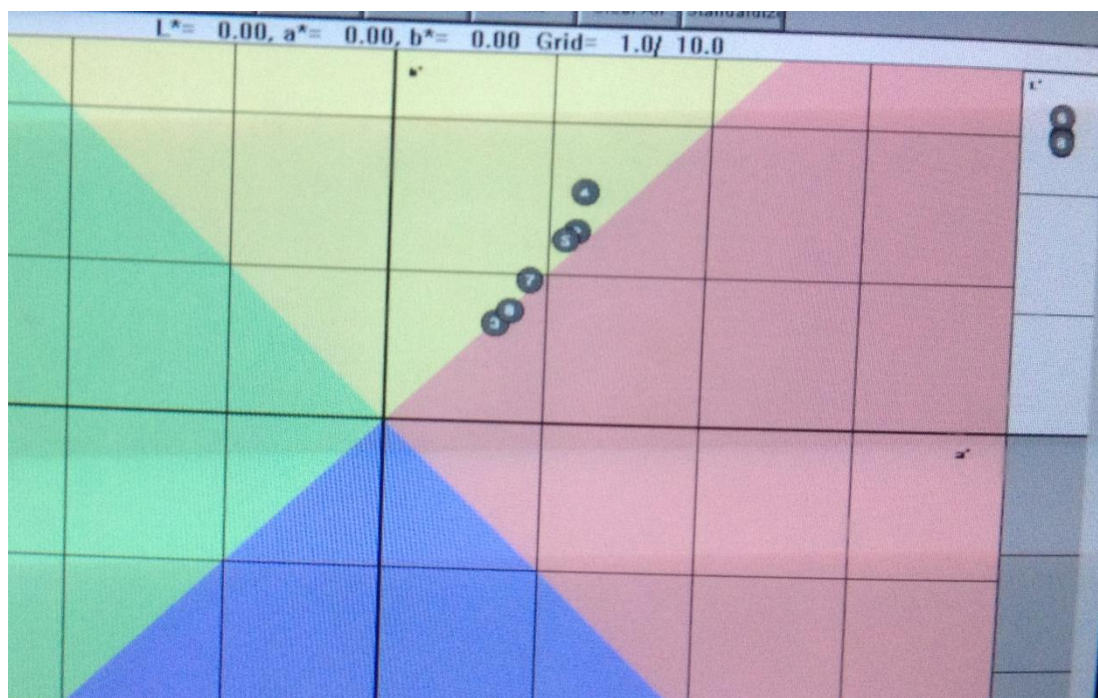


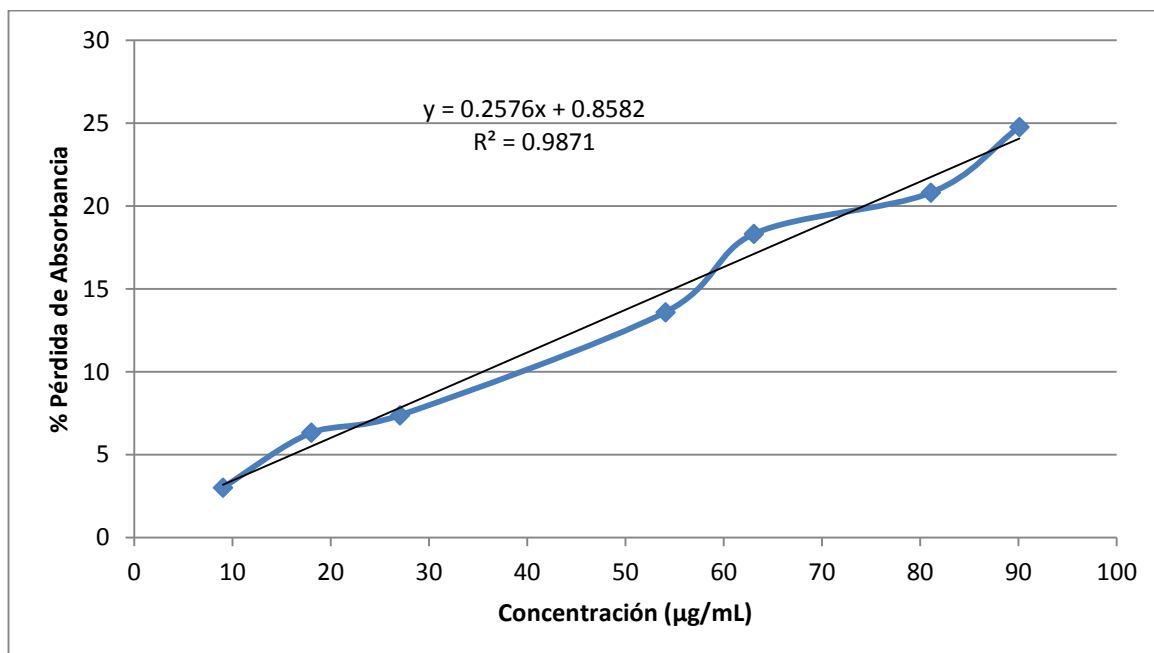
Imagen No. 10: Distribución de muestras de café expreso en el análisis de colorimetría.



Cuadro No. 13: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Huehuetenango elaborado por el método de hervido.

Volumen de Muestra (mL)	Volumen de Metanol (mL)	Absorbancia		Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Pérdida de Absorbancia	IC50 ( $\mu\text{g/mL}$ )
		Tiempo 0	Tiempo 30			
0.02	2.98	1.490	1.445	9.01042	3.02013	190.76786
0.04	2.96	1.391	1.303	18.02083	6.32638	
0.06	2.94	1.369	1.268	27.03125	7.37765	
0.08	2.92	1.324	1.063	36.04167	19.71299	
0.10	2.90	1.299	1.205	45.05208	7.23634	
0.12	2.88	1.258	1.087	54.06250	13.59300	
0.14	2.86	1.179	0.963	63.07292	18.32061	
0.16	2.84	1.200	1.058	72.08333	11.83333	
0.18	2.82	1.091	0.864	81.09375	20.80660	
0.20	2.80	1.070	0.805	90.10417	24.76636	

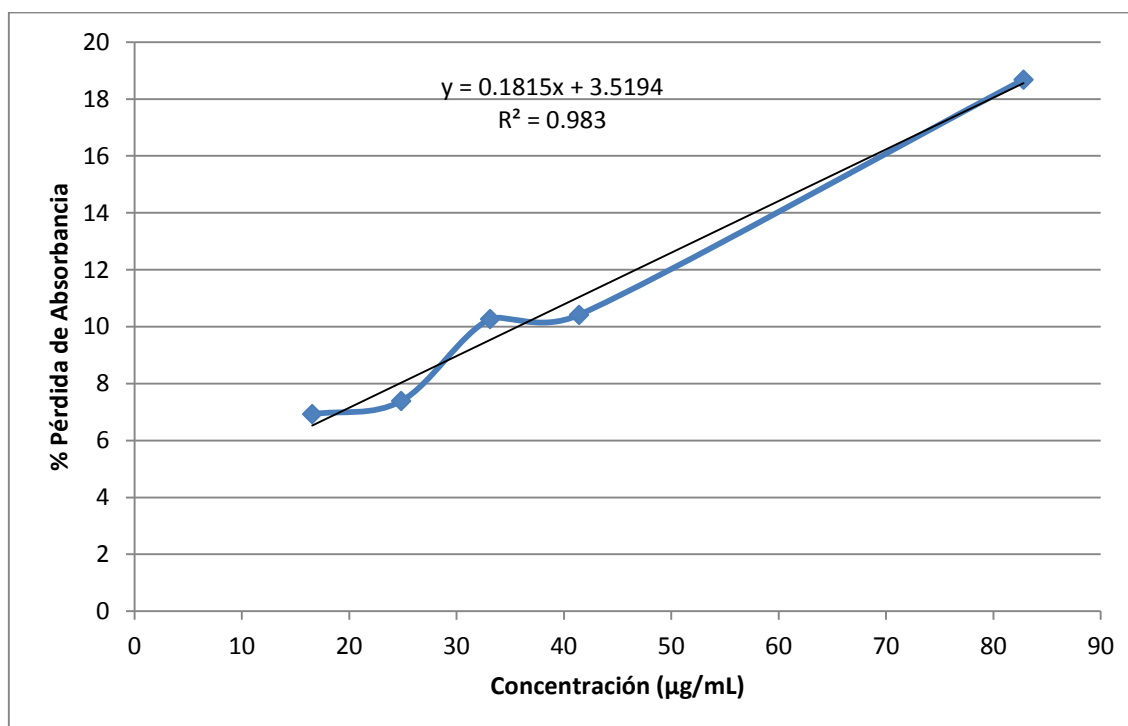
Figura No. 11: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Huehuetenango elaborado por el método de hervido.



Cuadro No. 14: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de San Marcos elaborado por el método de hervido.

Volumen de Muestra (mL)	Volumen de Metanol (mL)	Absorbancia		Concentración (µg/mL)	% Pérdida de Absorbancia	IC50 (µg/mL)
		Tiempo 0	Tiempo 30			
0.02	2.98	1.516	1.480	8.28125	2.37467	256.09146
0.04	2.96	1.444	1.344	16.56250	6.92521	
0.06	2.94	1.435	1.329	24.84375	7.38676	
0.08	2.92	1.412	1.267	33.12500	10.26912	
0.10	2.90	1.373	1.230	41.40625	10.41515	
0.12	2.88	1.314	1.204	49.68750	8.37139	
0.14	2.86	1.263	1.177	57.96875	6.80918	
0.16	2.84	1.220	1.086	66.25000	10.98361	
0.18	2.82	1.181	1.018	74.53125	13.80186	
0.20	2.80	1.215	0.988	82.81250	18.68313	

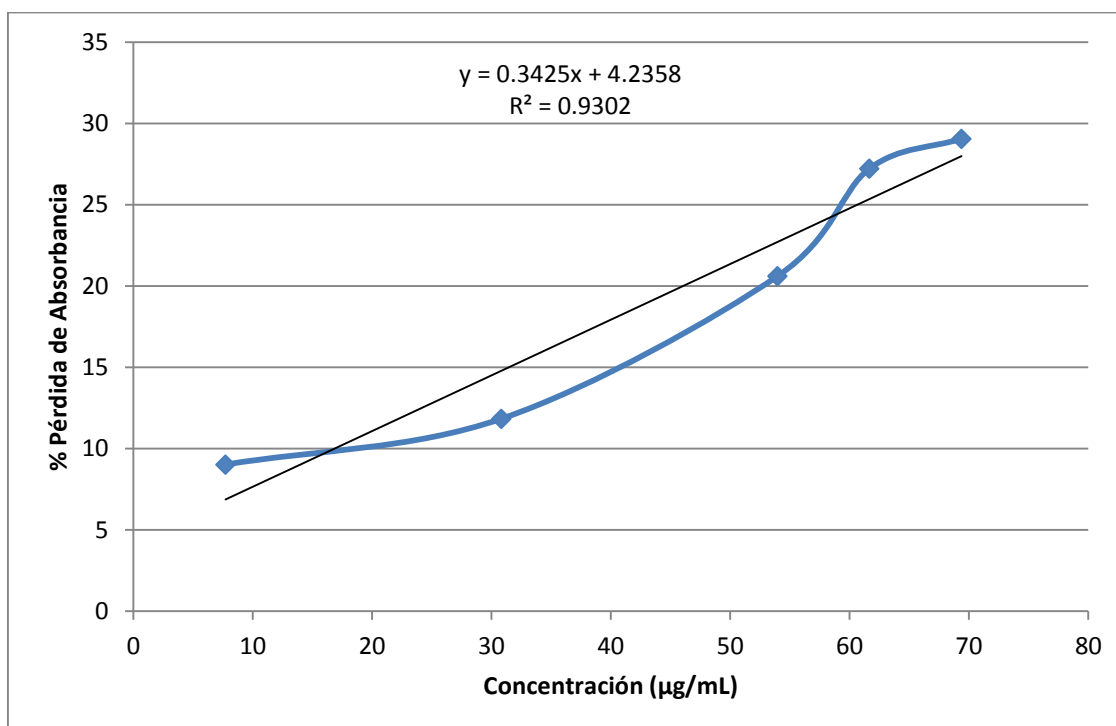
Figura No. 12: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de San Marcos elaborado por el método de hervido.



Cuadro No. 15: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Fraijanes elaborado por el método de hervido.

Volumen de Muestra (mL)	Volumen de Metanol (mL)	Absorbancia		Concentración ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	% Pérdida de Absorbancia	IC50 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
		Tiempo 0	Tiempo 30			
0.02	2.98	1.641	1.493	7.70833	9.01889	133.61810
0.04	2.96	1.526	1.461	15.41667	4.25950	
0.06	2.94	1.467	1.369	23.12500	6.68030	
0.08	2.92	1.436	1.266	30.83333	11.83844	
0.10	2.90	1.377	1.256	38.54167	8.78722	
0.12	2.88	1.201	1.067	46.25000	11.15737	
0.14	2.86	1.194	0.948	53.95833	20.60302	
0.16	2.84	1.128	0.821	61.66667	27.21631	
0.18	2.82	0.998	0.708	69.37500	29.05812	
0.20	2.80	0.964	0.761	77.08333	21.05809	

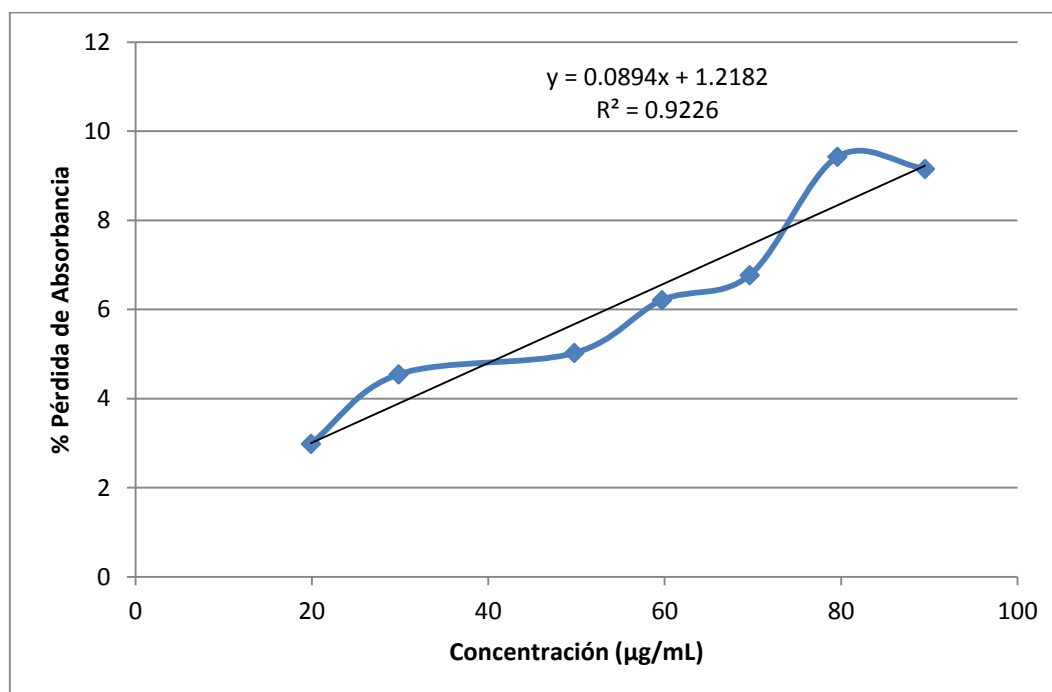
Figura No. 13: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Fraijanes elaborado por el método de hervido.



Cuadro No. 16: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Nuevo Oriente elaborado por el método de hervido.

Volumen de Muestra (mL)	Volumen de Metanol (mL)	Absorbancia		Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Pérdida de Absorbancia	IC50 ( $\mu\text{g/mL}$ )
		Tiempo 0	Tiempo 30			
0.02	2.98	1.537	1.514	9.94792	1.49642	545.65772
0.04	2.96	1.472	1.428	19.89583	2.98913	
0.06	2.94	1.430	1.365	29.84375	4.54545	
0.08	2.92	1.389	1.287	39.79167	7.34341	
0.10	2.90	1.374	1.305	49.73958	5.02183	
0.12	2.88	1.353	1.269	59.68750	6.20843	
0.14	2.86	1.300	1.212	69.63542	6.76923	
0.16	2.84	1.252	1.134	79.58333	9.42492	
0.18	2.82	1.234	1.121	89.53125	9.15721	
0.20	2.80	1.169	0.985	99.47917	15.73995	

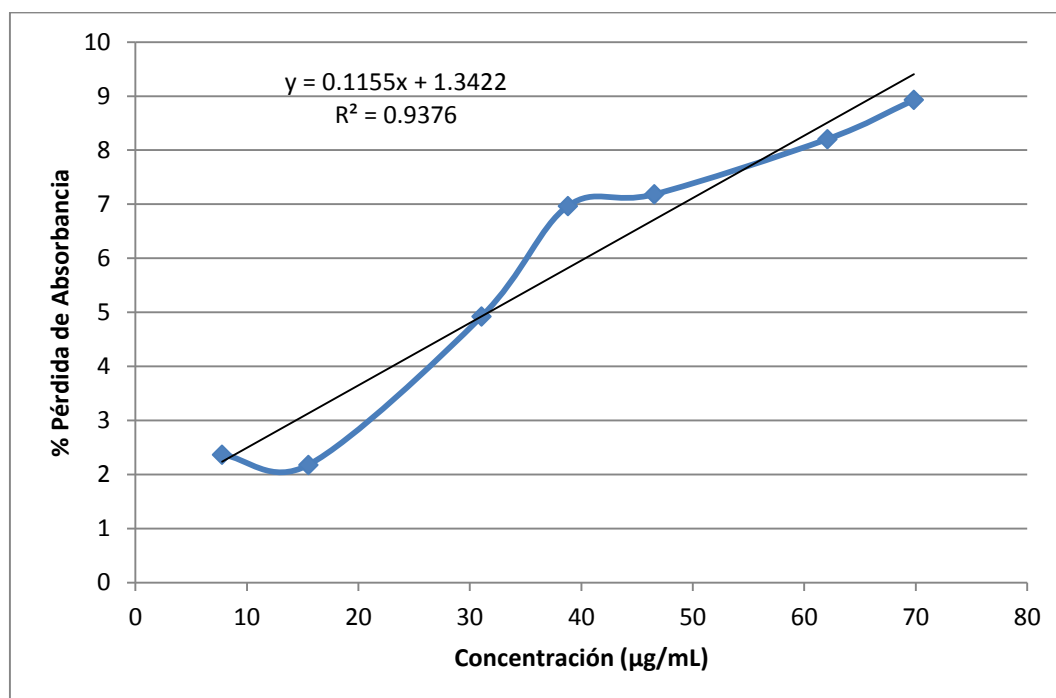
Figura No. 14: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Nuevo Oriente elaborado por el método de hervido.



Cuadro No. 17: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Atitlán elaborado por el método de hervido.

Volumen de Muestra (mL)	Volumen de Metanol (mL)	Absorbancia		Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Pérdida de Absorbancia	IC50 ( $\mu\text{g/mL}$ )
		Tiempo 0	Tiempo 30			
0.02	2.98	1.520	1.484	7.76042	2.36842	421.27965
0.04	2.96	1.515	1.482	15.52083	2.17822	
0.06	2.94	1.481	1.259	23.28125	14.98987	
0.08	2.92	1.463	1.391	31.04167	4.92139	
0.10	2.90	1.421	1.322	38.80208	6.96692	
0.12	2.88	1.378	1.279	46.56250	7.18433	
0.14	2.86	1.350	1.139	54.32292	15.62963	
0.16	2.84	1.304	1.197	62.08333	8.20552	
0.18	2.82	1.299	1.183	69.84375	8.92995	
0.20	2.80	1.179	0.934	77.60417	20.78032	

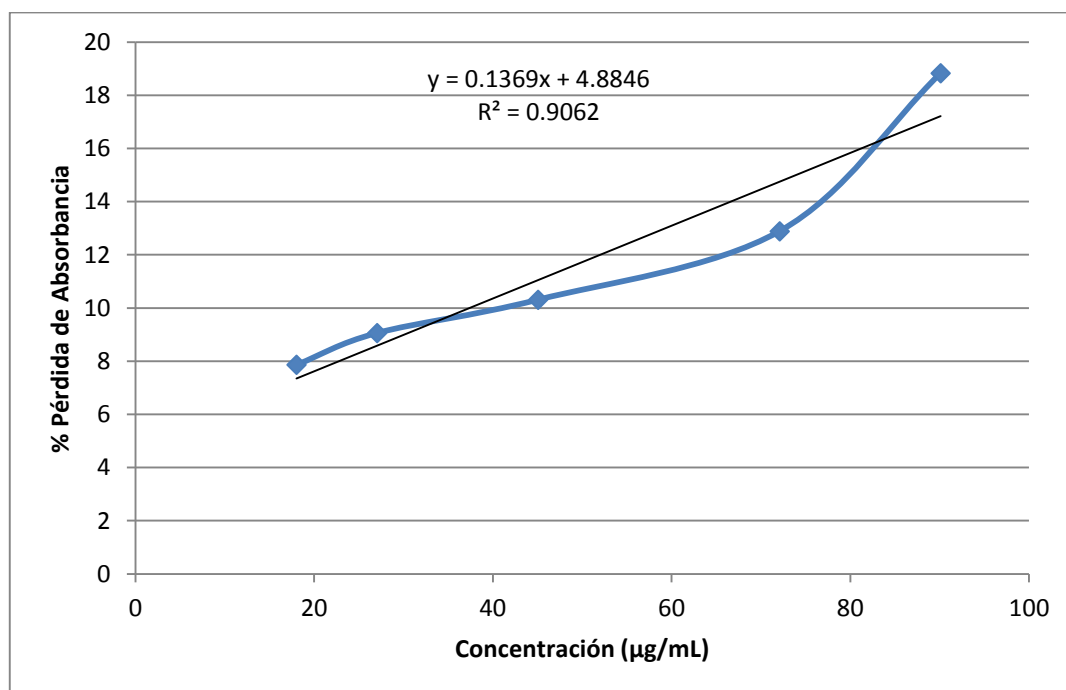
Figura No. 15: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Atitlán elaborado por el método de hervido.



Cuadro No. 18: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Acatenango elaborado por el método de hervido.

Volumen de Muestra (mL)	Volumen de Metanol (mL)	Absorbancia		Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Pérdida de Absorbancia	IC50 ( $\mu\text{g/mL}$ )
		Tiempo 0	Tiempo 30			
0.02	2.98	1.527	1.497	9.01042	1.96464	329.55004
0.04	2.96	1.437	1.324	18.02083	7.86360	
0.06	2.94	1.435	1.305	27.03125	9.05923	
0.08	2.92	1.407	1.313	36.04167	6.68088	
0.10	2.90	1.377	1.235	45.05208	10.31227	
0.12	2.88	1.327	1.123	54.06250	15.37302	
0.14	2.86	1.302	1.105	63.07292	15.13057	
0.16	2.84	1.226	1.068	72.08333	12.88744	
0.18	2.82	1.187	0.949	81.09375	20.05055	
0.20	2.80	1.200	0.974	90.10417	18.83333	

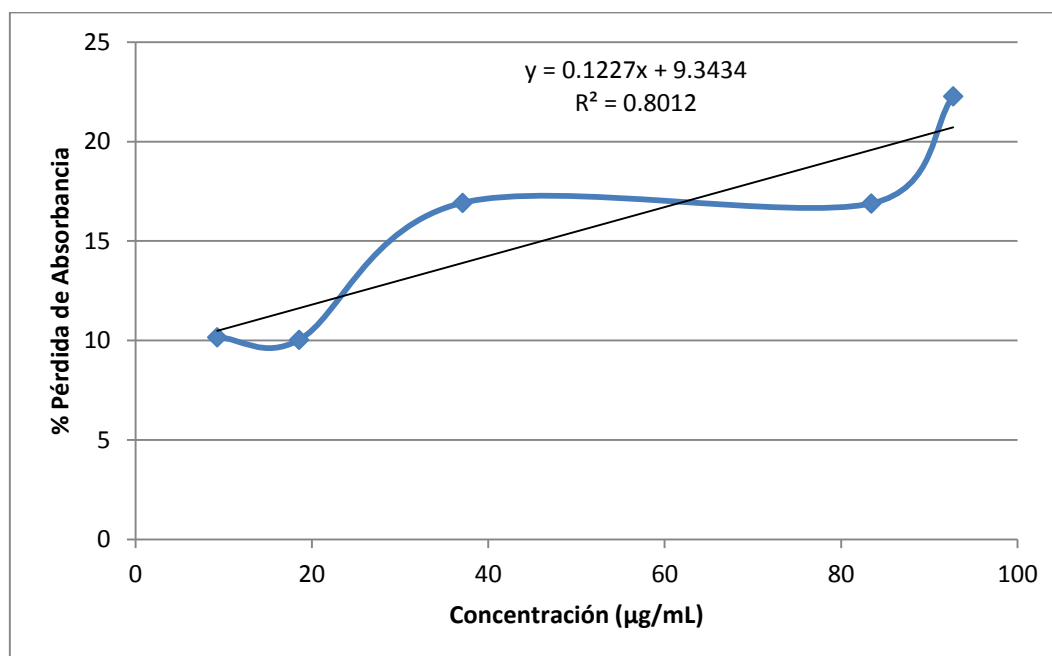
Figura No. 16: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Acatenango elaborado por el método de hervido.



Cuadro No. 19: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Cobán elaborado por el método de hervido.

Volumen de Muestra (mL)	Volumen de Metanol (mL)	Absorbancia		Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Pérdida de Absorbancia	IC50 ( $\mu\text{g/mL}$ )
		Tiempo 0	Tiempo 30			
0.02	2.98	1.337	1.201	9.27083	10.17203	331.34963
0.04	2.96	1.226	1.103	18.54167	10.03263	
0.06	2.94	1.312	1.186	27.81250	9.60366	
0.08	2.92	0.975	0.810	37.08333	16.92308	
0.10	2.90	1.217	1.113	46.35417	8.54560	
0.12	2.88	1.191	1.083	55.62500	9.06801	
0.14	2.86	1.161	1.043	64.89583	10.16365	
0.16	2.84	1.190	1.070	74.16667	10.08403	
0.18	2.82	0.959	0.797	83.43750	16.89260	
0.20	2.80	0.929	0.722	92.70833	22.28202	

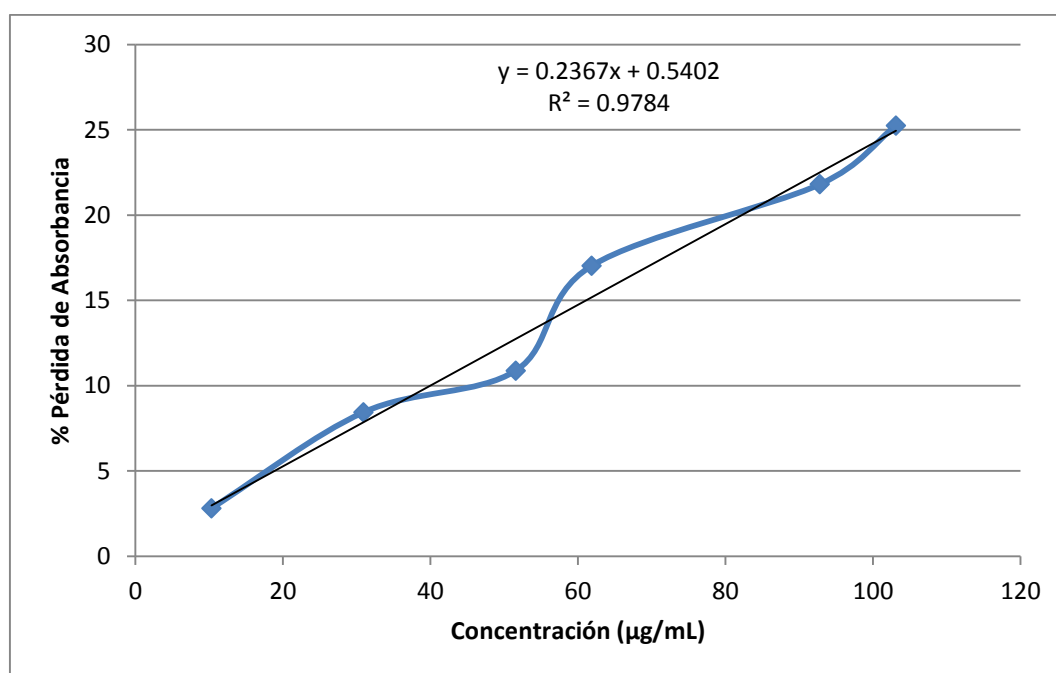
Figura No. 17: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Cobán elaborado por el método de hervido.



Cuadro No. 20: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Antigua elaborado por el método de hervido.

Volumen de Muestra (mL)	Volumen de Metanol (mL)	Absorbancia		Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Pérdida de Absorbancia	IC50 ( $\mu\text{g/mL}$ )
		Tiempo 0	Tiempo 30			
0.02	2.98	1.453	1.412	10.31250	2.82175	208.95564
0.04	2.96	1.427	1.259	20.62500	11.77295	
0.06	2.94	1.409	1.290	30.93750	8.44571	
0.08	2.92	1.365	1.178	41.25000	13.69963	
0.10	2.90	1.332	1.187	51.56250	10.88589	
0.12	2.88	1.315	1.091	61.87500	17.03422	
0.14	2.86	1.264	1.144	72.18750	9.49367	
0.16	2.84	1.136	0.835	82.50000	26.49648	
0.18	2.82	1.128	0.882	92.81250	21.80851	
0.20	2.80	1.085	0.811	103.12500	25.25346	

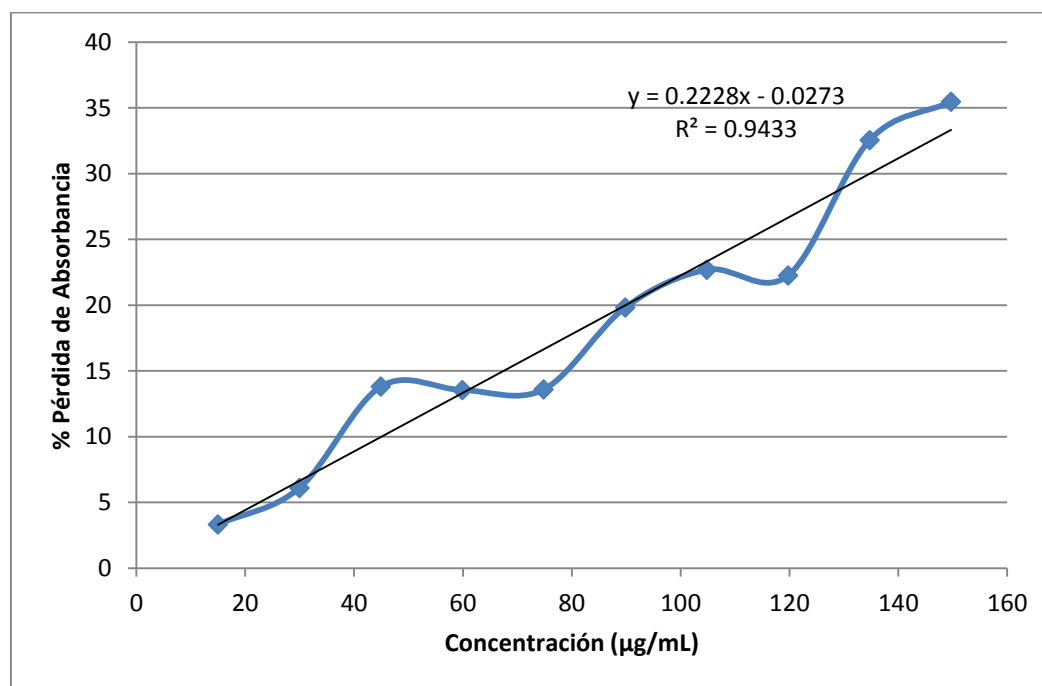
Figura No. 18: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Antigua elaborado por el método de hervido.



Cuadro No. 21: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Huehuetenango elaborado por el método de percolado.

Volumen de Muestra (mL)	Volumen de Metanol (mL)	Absorbancia		Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Pérdida de Absorbancia	IC50 ( $\mu\text{g/mL}$ )
		Tiempo 0	Tiempo 30			
0.03	2.97	1.592	1.539	14.97340	3.32915	224.53905
0.06	2.94	1.476	1.386	29.94681	6.09756	
0.09	2.91	1.376	1.186	44.92021	13.80814	
0.12	2.88	1.366	1.181	59.89362	13.54319	
0.15	2.85	1.228	1.061	74.86702	13.59935	
0.18	2.82	1.160	0.930	89.84043	19.82759	
0.21	2.79	1.106	0.855	104.81383	22.69439	
0.24	2.76	1.060	0.824	119.78723	22.26415	
0.27	2.73	0.971	0.655	134.76064	32.54377	
0.30	2.70	0.905	0.584	149.73404	35.46961	

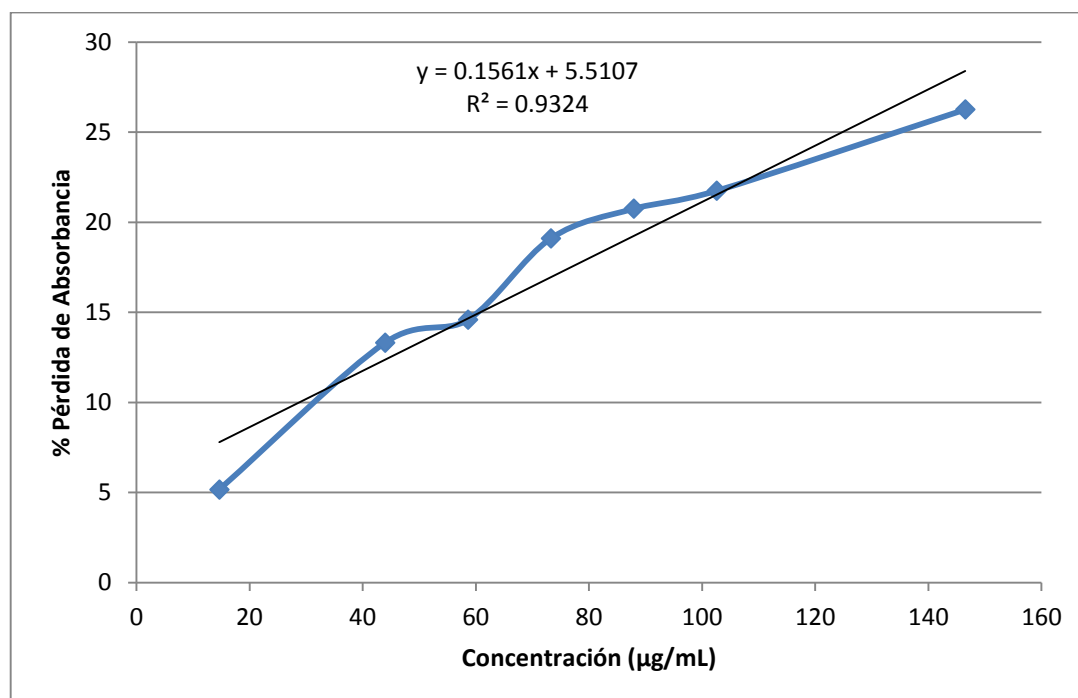
Figura No. 19: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Huehuetenango elaborado por el método de percolado.



Cuadro No. 22: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de San Marcos elaborado por el método de percolado.

Volumen de Muestra (mL)	Volumen de Metanol (mL)	Absorbancia		Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Pérdida de Absorbancia	IC50 ( $\mu\text{g/mL}$ )
		Tiempo 0	Tiempo 30			
0.03	2.97	1.547	1.467	14.65426	5.17130	285.00512
0.06	2.94	1.471	1.401	29.30851	4.75867	
0.09	2.91	1.502	1.302	43.96277	13.31558	
0.12	2.88	1.412	1.206	58.61702	14.58924	
0.15	2.85	1.382	1.118	73.27128	19.10275	
0.18	2.82	1.306	1.035	87.92553	20.75038	
0.21	2.79	1.260	0.986	102.57979	21.74603	
0.24	2.76	1.180	0.833	117.23404	29.40678	
0.27	2.73	1.163	0.624	131.88830	46.34566	
0.30	2.70	1.074	0.792	146.54255	26.25698	

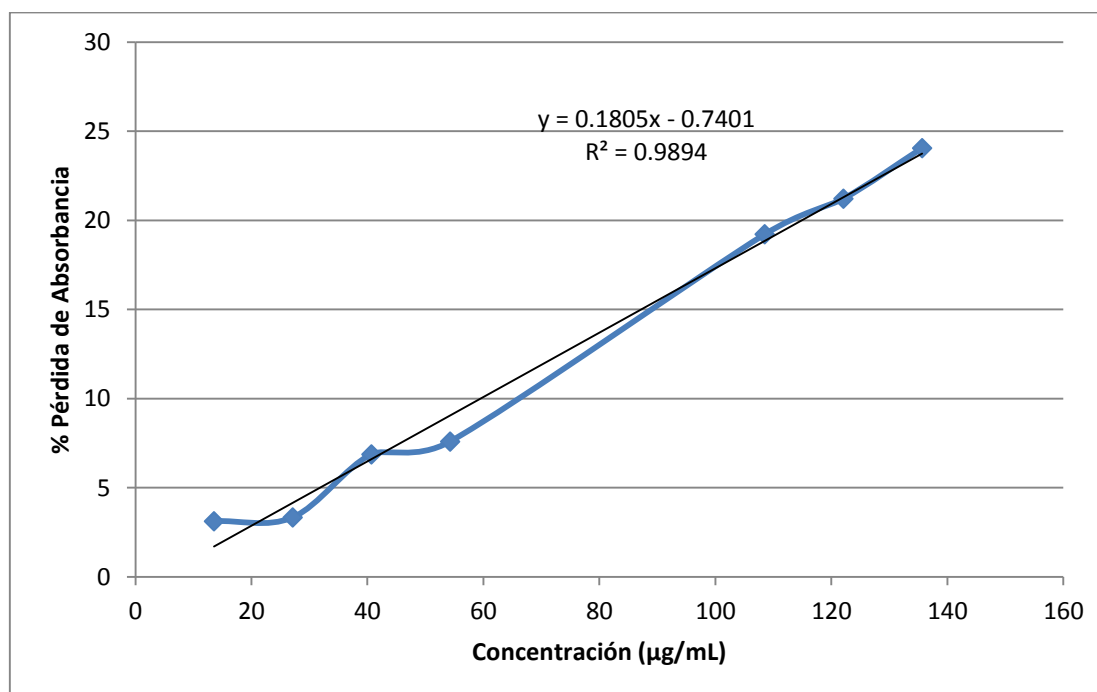
Figura No. 20: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de San Marcos elaborado por el método de percolado.



Cuadro No. 23: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Fraijanes elaborado por el método de percolado.

Volumen de Muestra (mL)	Volumen de Metanol (mL)	Absorbancia		Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Pérdida de Absorbancia	IC50 ( $\mu\text{g/mL}$ )
		Tiempo 0	Tiempo 30			
0.03	2.97	1.535	1.487	13.56383	3.12704	281.10859
0.06	2.94	1.467	1.418	27.12766	3.34015	
0.09	2.91	1.483	1.381	40.69149	6.87795	
0.12	2.88	1.396	1.290	54.25532	7.59312	
0.15	2.85	1.424	1.140	67.81915	19.94382	
0.18	2.82	1.395	1.107	81.38298	20.64516	
0.21	2.79	1.337	1.033	94.94681	22.73747	
0.24	2.76	1.280	1.034	108.51064	19.21875	
0.27	2.73	1.183	0.932	122.07447	21.21724	
0.30	2.70	1.164	0.884	135.63830	24.05498	

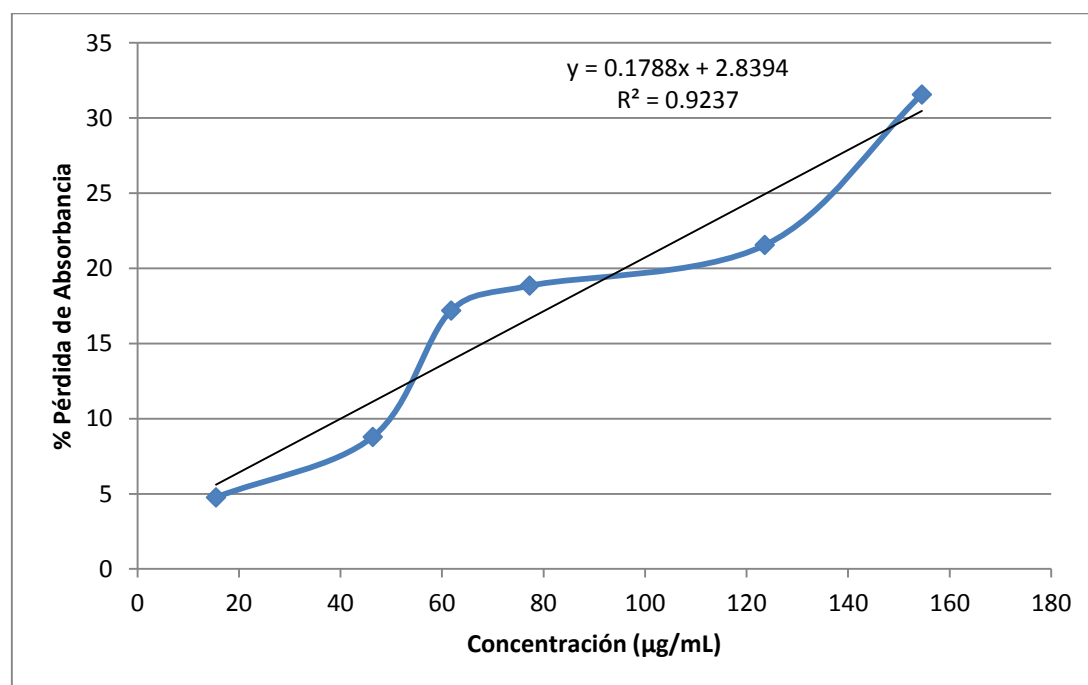
Figura No. 21: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Fraijanes elaborado por el método de percolado.



Cuadro No. 24: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Nuevo Oriente elaborado por el método de percolado.

Volumen de Muestra (mL)	Volumen de Metanol (mL)	Absorbancia		Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Pérdida de Absorbancia	IC50 ( $\mu\text{g/mL}$ )
		Tiempo 0	Tiempo 30			
0.03	2.97	1.469	1.399	15.45213	4.76515	263.76174
0.06	2.94	1.453	1.410	30.90426	2.95939	
0.09	2.91	1.354	1.235	46.35638	8.78877	
0.12	2.88	1.297	1.074	61.80851	17.19352	
0.15	2.85	1.226	0.995	77.26064	18.84176	
0.18	2.82	1.187	0.978	92.71277	17.60741	
0.21	2.79	1.135	0.962	108.16489	15.24229	
0.24	2.76	1.035	0.812	123.61702	21.54589	
0.27	2.73	0.958	0.609	139.06915	36.43006	
0.30	2.70	0.963	0.659	154.52128	31.56802	

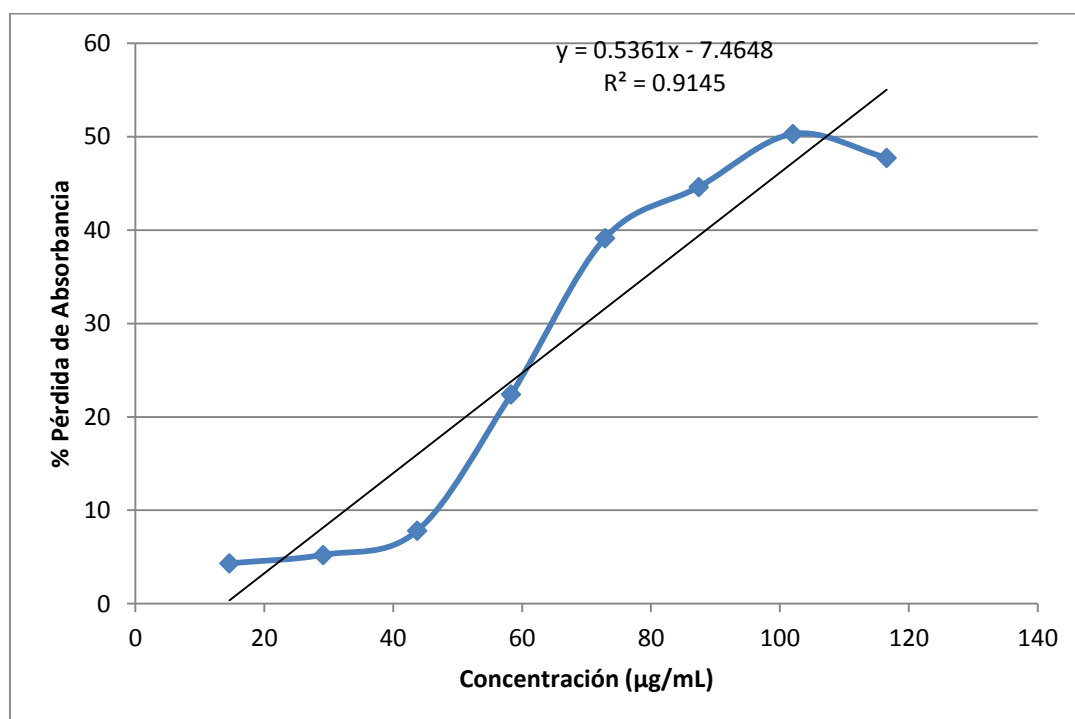
Figura No. 22: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Nuevo Oriente elaborado por el método de percolado.



Cuadro No. 25: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Atilán elaborado por el método de percolado.

Volumen de Muestra (mL)	Volumen de Metanol (mL)	Absorbancia		Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Pérdida de Absorbancia	IC50 ( $\mu\text{g/mL}$ )
		Tiempo 0	Tiempo 30			
0.03	2.97	1.550	1.483	14.57447	4.32258	107.19045
0.06	2.94	1.471	1.394	29.14894	5.23453	
0.09	2.91	1.459	1.345	43.72340	7.81357	
0.12	2.88	1.348	1.046	58.29787	22.40356	
0.15	2.85	1.086	0.661	72.87234	39.13444	
0.18	2.82	0.986	0.546	87.44681	44.62475	
0.21	2.79	1.040	0.517	102.02128	50.28846	
0.24	2.76	0.882	0.461	116.59574	47.73243	
0.27	2.73	0.844	0.516	131.17021	38.86256	
0.30	2.70	0.512	0.124	145.74468	75.78125	

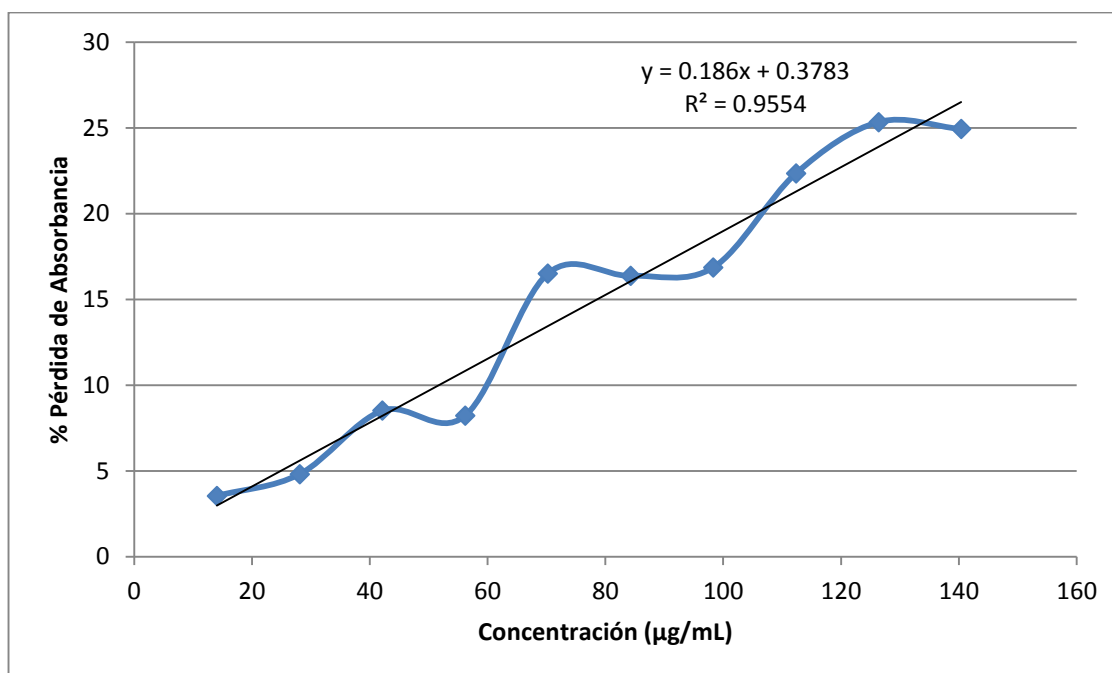
Figura No. 23: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Atilán elaborado por el método de percolado.



Cuadro No. 26: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Acatenango elaborado por el método de percolado.

Volumen de Muestra (mL)	Volumen de Metanol (mL)	Absorbancia		Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Pérdida de Absorbancia	IC50 ( $\mu\text{g/mL}$ )
		Tiempo 0	Tiempo 30			
0.03	2.97	1.549	1.494	14.04255	3.55068	266.78333
0.06	2.94	1.516	1.443	28.08511	4.81530	
0.09	2.91	1.468	1.343	42.12766	8.51499	
0.12	2.88	1.387	1.273	56.17021	8.21918	
0.15	2.85	1.321	1.103	70.21277	16.50265	
0.18	2.82	1.270	1.062	84.25532	16.37795	
0.21	2.79	1.210	1.006	98.29787	16.85950	
0.24	2.76	1.025	0.796	112.34043	22.34146	
0.27	2.73	1.109	0.828	126.38298	25.33814	
0.30	2.70	1.067	0.801	140.42553	24.92971	

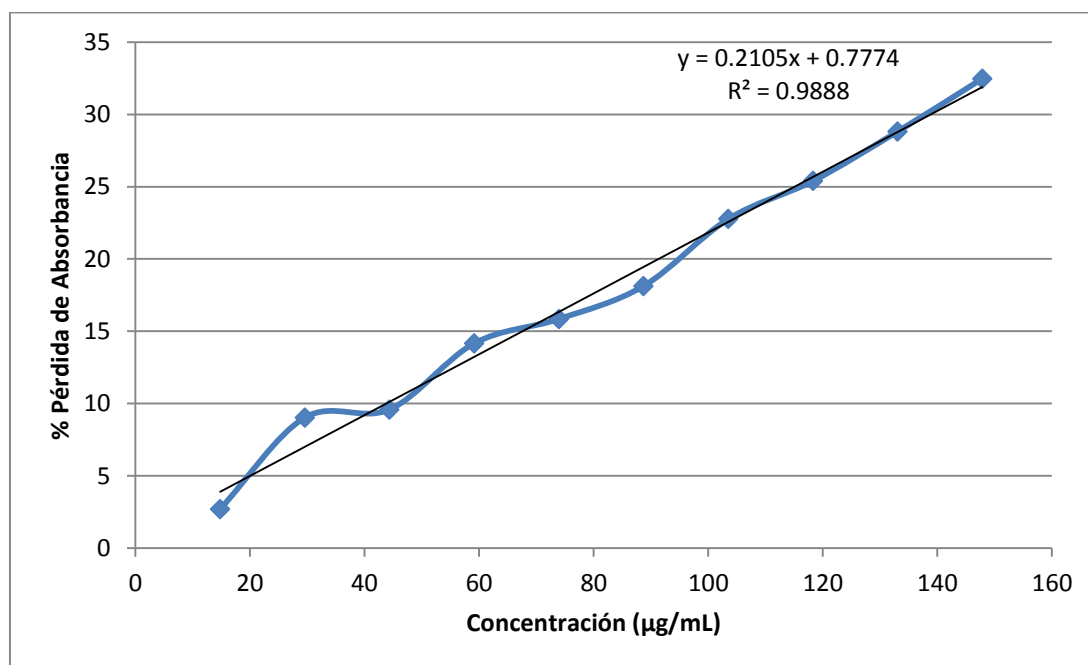
Figura No. 24: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Acatenango elaborado por el método de percolado.



Cuadro No. 27: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Cobán elaborado por el método de percolado.

Volumen de Muestra (mL)	Volumen de Metanol (mL)	Absorbancia		Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Pérdida de Absorbancia	IC50 ( $\mu\text{g/mL}$ )
		Tiempo 0	Tiempo 30			
0.03	2.97	1.585	1.542	14.78723	2.71293	233.83658
0.06	2.94	1.517	1.380	29.57447	9.03098	
0.09	2.91	1.449	1.310	44.36170	9.59282	
0.12	2.88	1.440	1.236	59.14894	14.16667	
0.15	2.85	1.287	1.083	73.93617	15.85082	
0.18	2.82	1.263	1.034	88.72340	18.13143	
0.21	2.79	1.186	0.916	103.51064	22.76560	
0.24	2.76	1.126	0.840	118.29787	25.39964	
0.27	2.73	0.975	0.694	133.08511	28.82051	
0.30	2.70	0.936	0.632	147.87234	32.47863	

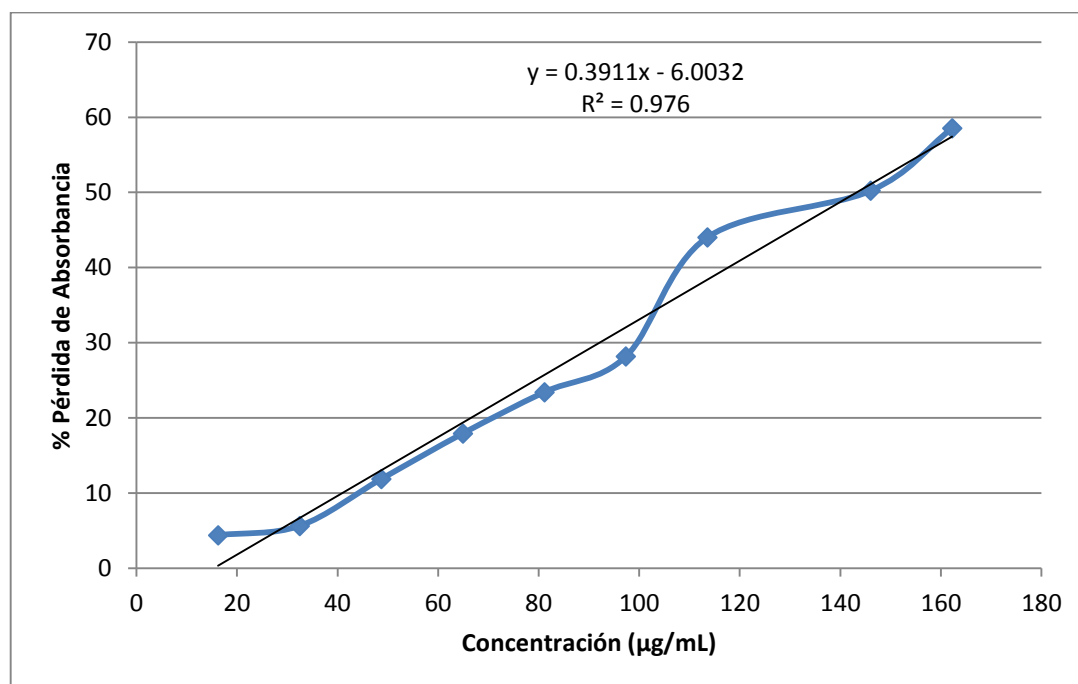
Figura No. 25: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Cobán elaborado por el método de percolado.



Cuadro No. 28: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Antigua elaborado por el método de percolado.

Volumen de Muestra (mL)	Volumen de Metanol (mL)	Absorbancia		Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Pérdida de Absorbancia	IC50 ( $\mu\text{g/mL}$ )
		Tiempo 0	Tiempo 30			
0.03	2.97	1.663	1.590	16.22340	4.38966	143.19407
0.06	2.94	1.599	1.509	32.44681	5.62852	
0.09	2.91	1.501	1.323	48.67021	11.85876	
0.12	2.88	1.389	1.140	64.89362	17.92657	
0.15	2.85	1.208	0.925	81.11702	23.42715	
0.18	2.82	1.182	0.849	97.34043	28.17259	
0.21	2.79	1.256	0.703	113.56383	44.02866	
0.24	2.76	1.232	0.513	129.78723	58.36039	
0.27	2.73	1.169	0.582	146.01064	50.21386	
0.30	2.70	1.020	0.423	162.23404	58.52941	

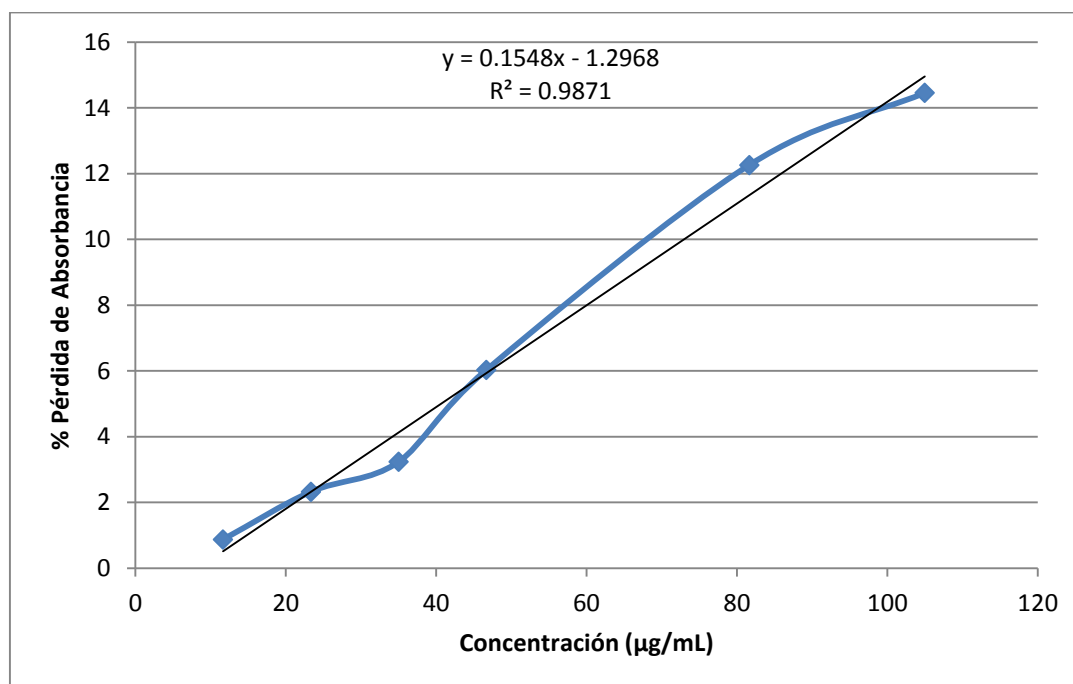
Figura No. 26: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Antigua elaborado por el método de percolado.



Cuadro No. 29: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Huehuetenango elaborado por el método de expreso.

Volumen de Muestra (mL)	Volumen de Metanol (mL)	Absorbancia		Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Pérdida de Absorbancia	IC50 ( $\mu\text{g/mL}$ )
		Tiempo 0	Tiempo 30			
0.05	2.95	1.485	1.472	11.66667	0.87542	331.37468
0.10	2.90	1.462	1.428	23.33333	2.32558	
0.15	2.85	1.453	1.406	35.00000	3.23469	
0.20	2.80	1.344	1.263	46.66667	6.02679	
0.25	2.75	1.268	1.147	58.33333	9.54259	
0.30	2.70	1.281	0.971	70.00000	24.19984	
0.35	2.65	1.215	1.066	81.66667	12.26337	
0.40	2.60	1.160	1.020	93.33333	12.06897	
0.45	2.55	1.093	0.935	105.00000	14.45563	
0.50	2.50	1.015	0.872	116.66667	14.08867	

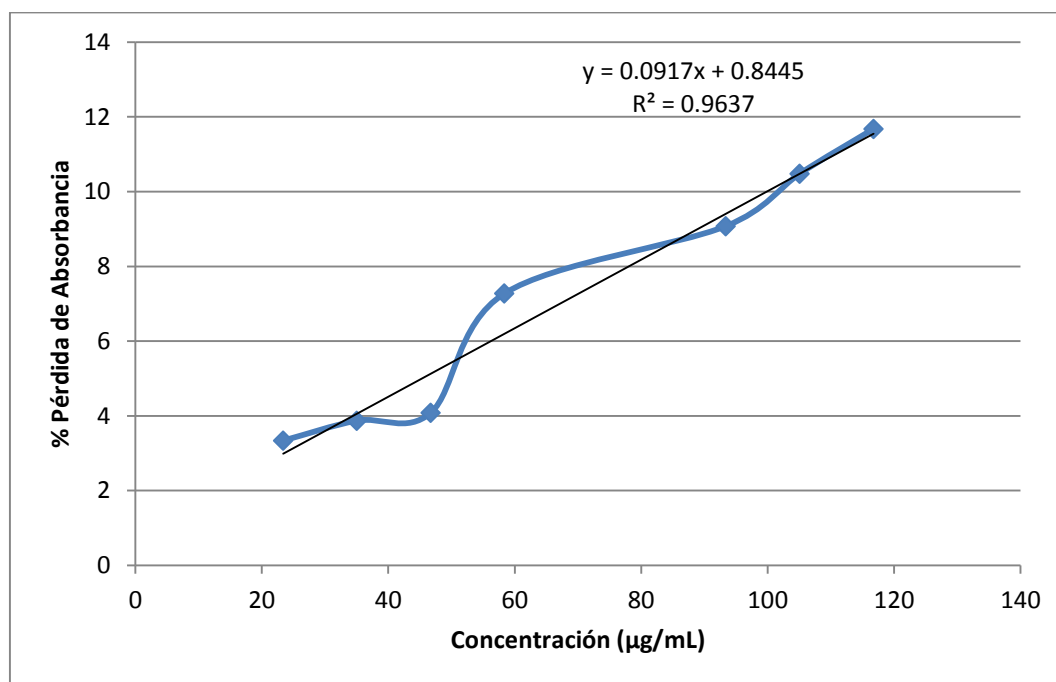
Figura No. 27: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Huehuetenango elaborado por el método de expreso.



Cuadro No. 30: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de San Marcos elaborado por el método de expreso.

Volumen de Muestra (mL)	Volumen de Metanol (mL)	Absorbancia		Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Pérdida de Absorbancia	IC50 ( $\mu\text{g/mL}$ )
		Tiempo 0	Tiempo 30			
0.05	2.95	1.527	1.456	11.67500	4.64964	536.04689
0.10	2.90	1.498	1.448	23.35000	3.33778	
0.15	2.85	1.472	1.415	35.02500	3.87228	
0.20	2.80	1.421	1.363	46.70000	4.08163	
0.25	2.75	1.347	1.249	58.37500	7.27543	
0.30	2.70	1.297	1.175	70.05000	9.40632	
0.35	2.65	1.270	1.155	81.72500	9.05512	
0.40	2.60	1.234	1.122	93.40000	9.07618	
0.45	2.55	1.193	1.068	105.07500	10.47779	
0.50	2.50	1.139	1.006	116.75000	11.67691	

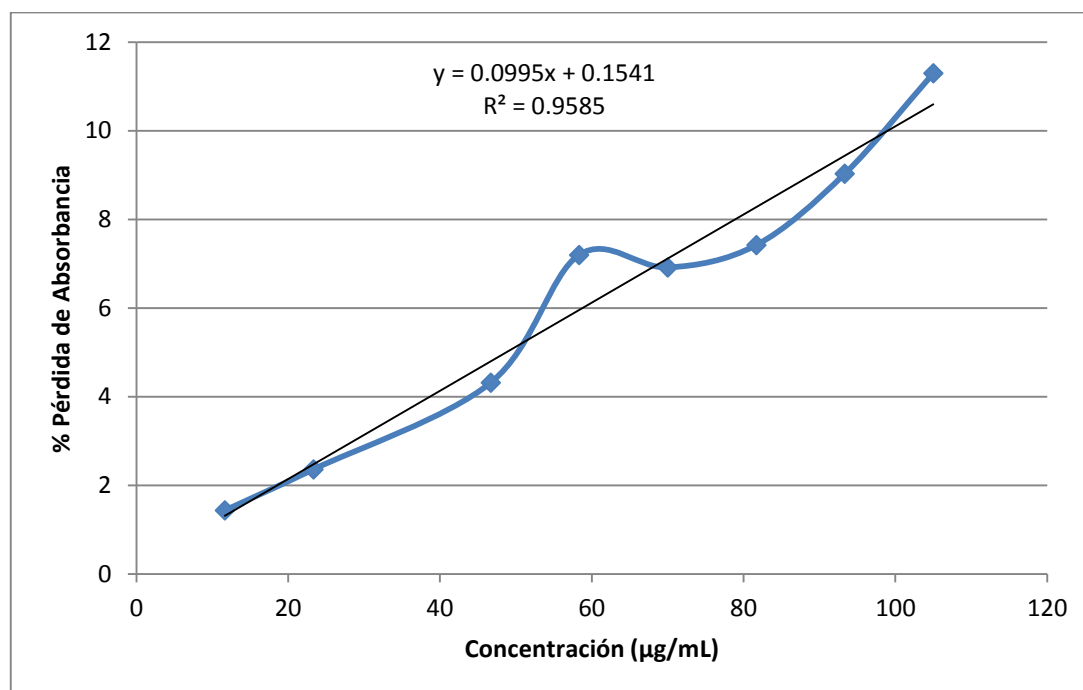
Figura No. 28: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de San Marcos elaborado por el método de expreso.



Cuadro No. 31: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Fraijanes elaborado por el método de expreso.

Volumen de Muestra (mL)	Volumen de Metanol (mL)	Absorbancia		Concentración (µg/mL)	% Pérdida de Absorbancia	IC50 (µg/mL)
		Tiempo 0	Tiempo 30			
0.05	2.95	1.603	1.580	11.66667	1.43481	500.96382
0.10	2.90	1.525	1.489	23.33333	2.36066	
0.15	2.85	1.478	1.366	35.00000	7.57781	
0.20	2.80	1.391	1.331	46.66667	4.31344	
0.25	2.75	1.389	1.289	58.33333	7.19942	
0.30	2.70	1.316	1.225	70.00000	6.91489	
0.35	2.65	1.267	1.173	81.66667	7.41910	
0.40	2.60	1.196	1.088	93.33333	9.03010	
0.45	2.55	1.142	1.013	105.00000	11.29597	
0.50	2.50	1.088	0.892	116.66667	18.01471	

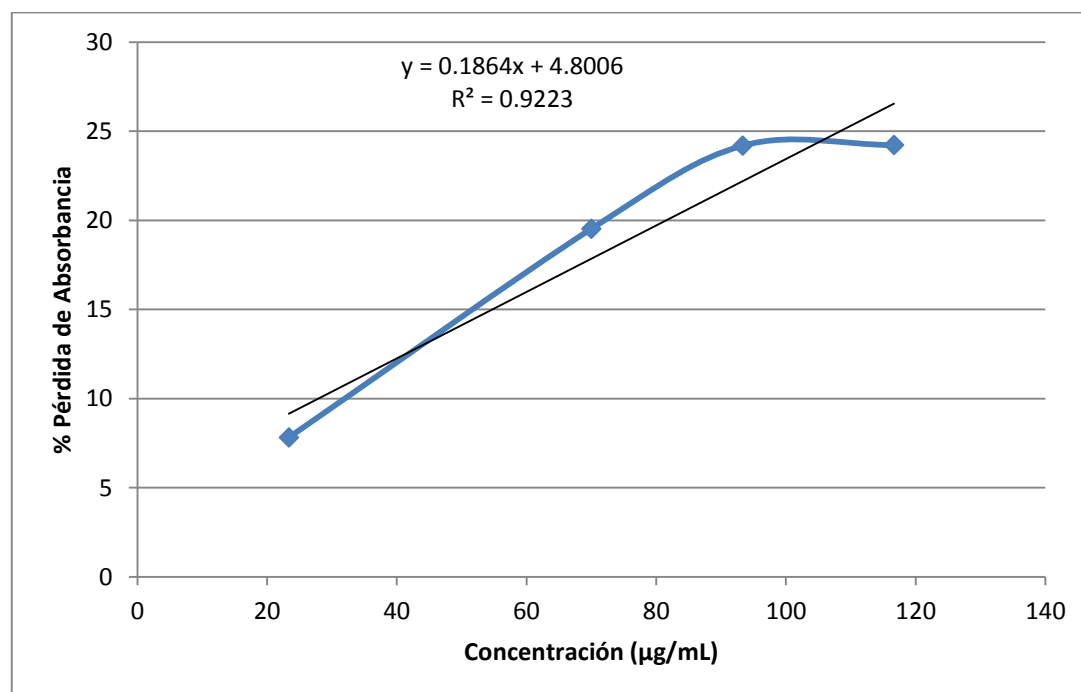
Figura No. 29: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Fraijanes elaborado por el método de expreso.



Cuadro 32: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Nuevo Oriente elaborado por el método de expreso.

Volumen de Muestra (mL)	Volumen de Metanol (mL)	Absorbancia		Concentración (µg/mL)	% Pérdida de Absorbancia	IC50 (µg/mL)
		Tiempo 0	Tiempo 30			
0.05	2.95	1.527	1.400	11.66667	8.31696	242.48605
0.10	2.90	1.484	1.368	23.33333	7.81671	
0.15	2.85	1.441	1.331	35.00000	7.63359	
0.20	2.80	1.383	1.296	46.66667	6.29067	
0.25	2.75	1.279	1.036	58.33333	18.99922	
0.30	2.70	1.224	0.985	70.00000	19.52614	
0.35	2.65	1.161	0.860	81.66667	25.92593	
0.40	2.60	1.108	0.840	93.33333	24.18773	
0.45	2.55	1.050	0.844	105.00000	19.61905	
0.50	2.50	0.999	0.757	116.66667	24.22422	

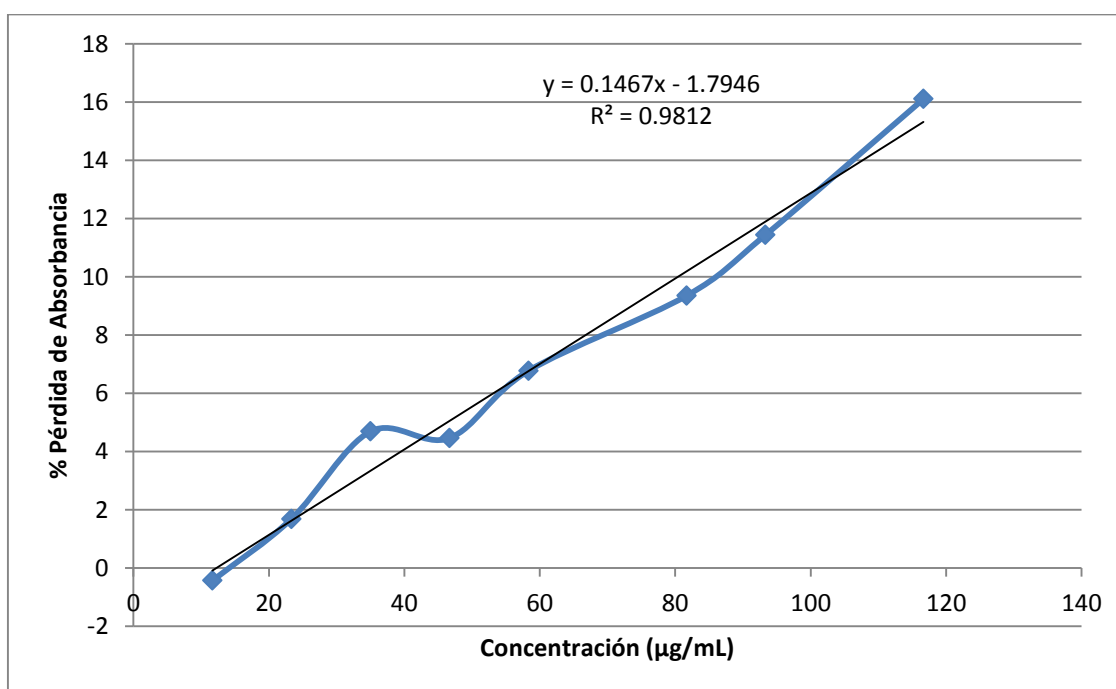
Figura 30: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Nuevo Oriente elaborado por el método de expreso.



Cuadro No. 33: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Atitlán elaborado por el método de expreso.

Volumen de Muestra (mL)	Volumen de Metanol (mL)	Absorbancia		Concentración (µg/mL)	% Pérdida de Absorbancia	IC50 (µg/mL)
		Tiempo 0	Tiempo 30			
0.05	2.95	1.631	1.638	11.66667	-0.42918	353.06476
0.10	2.90	1.421	1.397	23.33333	1.68895	
0.15	2.85	1.428	1.361	35.00000	4.69188	
0.20	2.80	1.366	1.305	46.66667	4.46559	
0.25	2.75	1.314	1.225	58.33333	6.77321	
0.30	2.70	1.235	1.085	70.00000	12.14575	
0.35	2.65	1.262	1.144	81.66667	9.35024	
0.40	2.60	1.154	1.022	93.33333	11.43847	
0.45	2.55	1.082	0.897	105.00000	17.09797	
0.50	2.50	1.043	0.875	116.66667	16.10738	

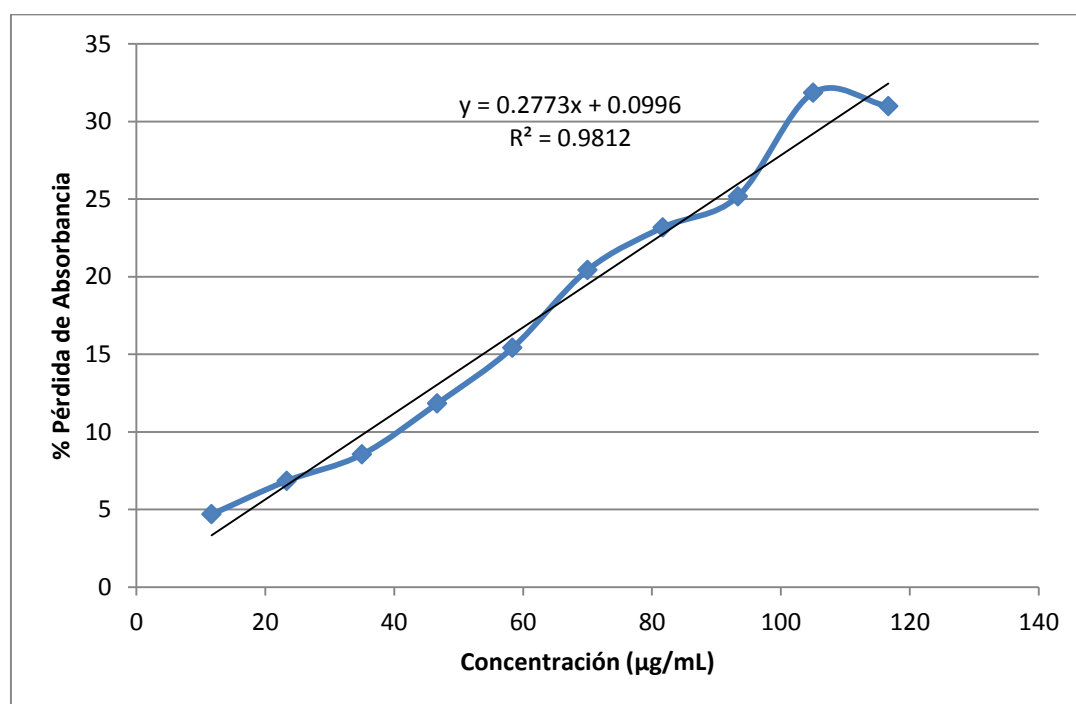
Figura No. 31: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Atitlán elaborado por el método de expreso.



Cuadro No. 34: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Acatenango elaborado por el método de expreso.

Volumen de Muestra (mL)	Volumen de Metanol (mL)	Absorbancia		Concentración (µg/mL)	% Pérdida de Absorbancia	IC50 (µg/mL)
		Tiempo 0	Tiempo 30			
0.05	2.95	1.535	1.463	11.66667	4.69055	179.95096
0.10	2.90	1.490	1.388	23.33333	6.84564	
0.15	2.85	1.381	1.263	35.00000	8.54453	
0.20	2.80	1.378	1.215	46.66667	11.82874	
0.25	2.75	1.285	1.087	58.33333	15.40856	
0.30	2.70	1.302	1.036	70.00000	20.43011	
0.35	2.65	1.230	0.945	81.66667	23.17073	
0.40	2.60	1.152	0.862	93.33333	25.17361	
0.45	2.55	1.121	0.764	105.00000	31.84657	
0.50	2.50	1.088	0.751	116.66667	30.97426	

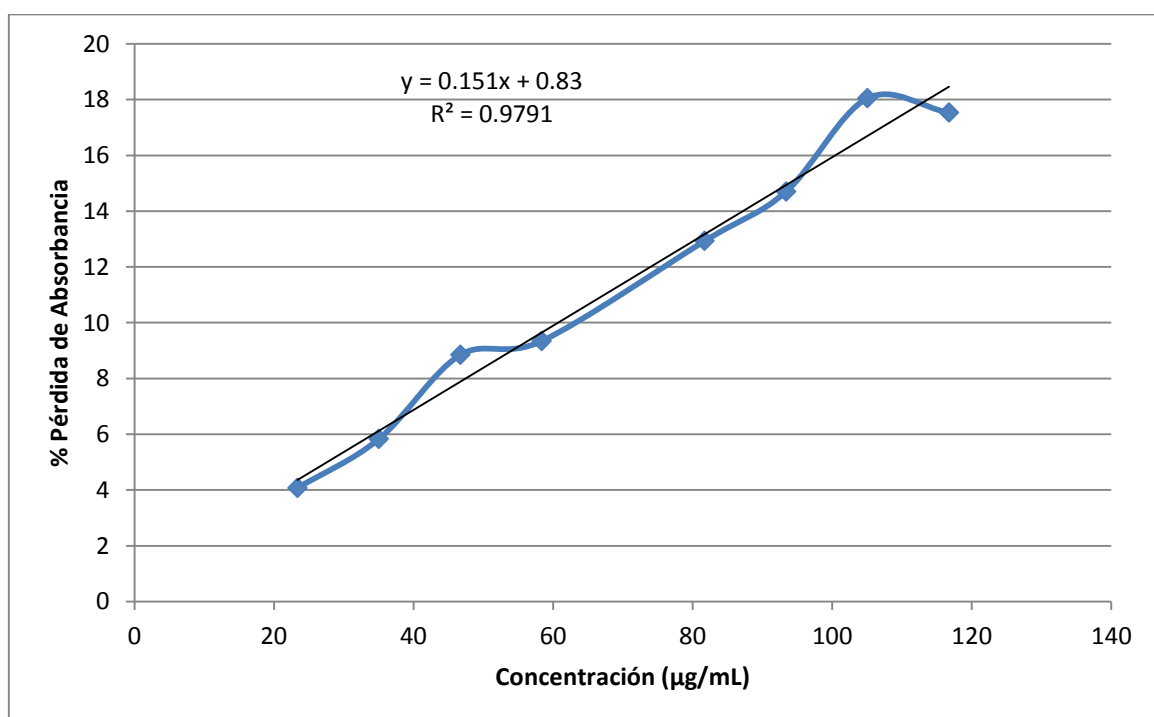
Figura No. 32: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Acatenango elaborado por el método de expreso.



Cuadro No. 35: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Cobán elaborado por el método de expreso.

Volumen de Muestra (mL)	Volumen de Metanol (mL)	Absorbancia		Concentración (µg/mL)	% Pérdida de Absorbancia	IC50 (µg/mL)
		Tiempo 0	Tiempo 30			
0.05	2.95	1.659	1.586	11.67500	4.40024	325.62914
0.10	2.90	1.376	1.320	23.35000	4.06977	
0.15	2.85	1.356	1.277	35.02500	5.82596	
0.20	2.80	1.176	1.072	46.70000	8.84354	
0.25	2.75	1.167	1.058	58.37500	9.34019	
0.30	2.70	1.008	0.800	70.05000	20.63492	
0.35	2.65	1.106	0.963	81.72500	12.92948	
0.40	2.60	1.034	0.882	93.40000	14.70019	
0.45	2.55	1.014	0.831	105.07500	18.04734	
0.50	2.50	0.907	0.748	116.75000	17.53032	

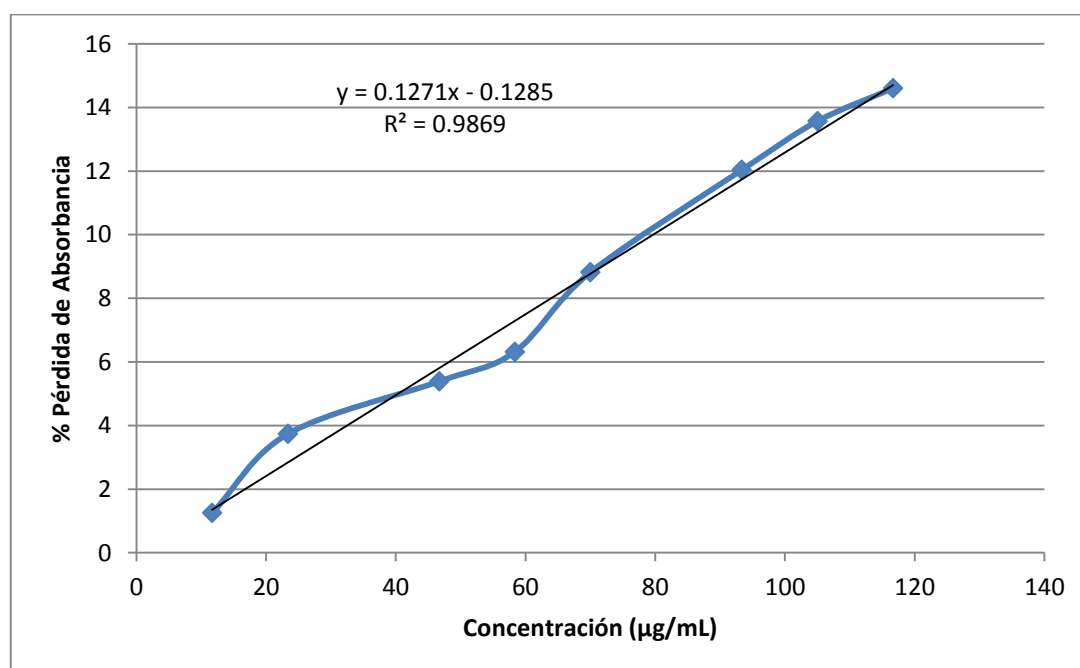
Figura No. 33: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Cobán elaborado por el método de expreso.



Cuadro No. 36: Datos obtenidos para la determinación de capacidad antioxidante del café de Antigua elaborado por el método de expreso.

Volumen de Muestra (mL)	Volumen de Metanol (mL)	Absorbancia		Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Pérdida de Absorbancia	IC50 ( $\mu\text{g/mL}$ )
		Tiempo 0	Tiempo 30			
0.05	2.95	1.523	1.504	11.66667	1.24754	394.40205
0.10	2.90	1.473	1.418	23.33333	3.73388	
0.15	2.85	1.430	1.290	35.00000	9.79021	
0.20	2.80	1.374	1.300	46.66667	5.38574	
0.25	2.75	1.314	1.231	58.33333	6.31659	
0.30	2.70	1.293	1.179	70.00000	8.81671	
0.35	2.65	1.236	0.751	81.66667	39.23948	
0.40	2.60	1.147	1.009	93.33333	12.03139	
0.45	2.55	1.113	0.962	105.00000	13.56694	
0.50	2.50	1.041	0.889	116.66667	14.60134	

Figura No. 34: Curva para determinación de la ecuación para la obtención del IC50 del café de Antigua elaborado por el método de expreso.



Cuadro No. 37: Características de origen de las muestras de café de las 8 regiones.

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